Reinhard Urban

Histologische Untersuchungen an Präparaten autolog heterotop frei transplantierter glatter und quergestreifter Muskulatur bei Ratten

Diss. München

[illegible]

AUS DER KINDERKLINIK DER UNIVERSITÄT IM DR. v. HAUNERSCHEN
KINDERSPITAL - KINDERCHIRURGISCHE KLINIK
Direktor: Prof. Dr. med. W.Ch. Hecker

Histologische Untersuchungen an Präparaten autolog heterotop frei transplantierter glatter und quergestreifter Muskulatur bei Ratten.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin an
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dr. rer. nat. Reinhard Urban
aus München
1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. A.M. Holschneider
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W.Ch. Hecker
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündl. Prüfung:	28.7.1983

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Prof. Dr. I. Ugi
in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Seite

I Einleitung.....2

II Anatomie und Physiologie des Kontinenzorgans.....3

III Klassische Sphincterrekonstruktion durch Transplantation gestielter Muskellappen....7

IV Sphincterrekonstruktion durch freie Transplantation quergestreifter Muskulatur.....9

V Sphincterrekonstruktion durch freie Transplantation glatter Muskulatur.....11

VI Programm und Zielsetzung.....15

VII Histologische Befunde
Quergestreifte Muskulatur
- Muskulus soleus links -.....20
Quergestreifte Muskulatur
- M. flexor digitorum li. -.....34
Glatte Muskulatur
- Anastomose -.....37
Glatte Muskulatur
- Neosphincter -.....46

VIII Diskussion der Ergebnisse.....55

IX Zusammenfassung.....60

X Literaturverzeichnis.....63

I Einleitung

Die Inkontinenz des Darmes und der Harnblase stellen, obwohl sie keine lebensbedrohenden Erkrankungen sind eine oft schwerwiegende Beeinträchtigung des Befindens der betroffenen Personen dar. Darüberhinaus bewirken gerade diese Erkrankungen tiefgreifende psychische und soziale Probleme.

Unter der Incontinentia alvi versteht man einen nach Ausfall der Sphincteren nicht mehr willentlich beeinflussbaren Abgang von Stuhl. Dabei werden die Faeces nicht kontinuierlich entleert, da die grossen Colonbewegungen, welche sie vortreiben, nur periodisch auftreten.

Betrachtet man die äusseren Ursachen der Incontinentia alvi, so findet man sie im Erwachsenenalter nach operativen Eingriffen bei Tumoren des Rectums bzw. des Urogenitaltraktes, aber auch nach radiologischer Behandlung solcher Erkrankungen. Im Kindesalter treten Inkontinenzprobleme vor allem nach operativer Behandlung von Atresien des Dick- und Enddarmes, sowie bei nicht regelrechter Innervation der Beckenbodenmuskulatur und einer Hypo- bzw. Aplasie der Sphinktermuskulatur oder deren Innervation auf. Eine solche Erkrankung führt bei Kindern nicht nur in Bezug auf ihre körperliche Entwicklung, sondern auch und gerade in Bezug auf ihre seelische und soziale Entwicklung zu einer erheblichen Beeinträchtigung.

Die zumeist operative Wiederherstellung der Kontinenz ist daher für die Chirurgie allgemein, insbesondere aber für die Kinderchirurgie eine der hervorragendsten ärztlichen Aufgaben.

II Anatomie und Physiologie des Kontinenzorgans

Im Bereich des distalen Rectums, im Analkanal, findet sich der Übergang von der Schleimhaut des Dickdarmes zum verhornten Plattenepithel der äusseren Haut. Hier befindet sich das sog. Sphincter- oder Kontinenzorgan. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, kann man im Analkanal von proximal nach distal folgende Regionen unterscheiden:

1. Die Zona haemorrhoidalis ist ein Abschnitt mit 8 - 10 Längsfalten, Columnae anales mit den dazwischenliegenden Sinus anales. Von diesen Sinus aus führen Vertiefungen in die seitliche Wand und setzen sich hier durch den Musculus sphincter ani internus fort als sog. Proktodealdrüsen. Das in diesem Bereich vorhandenen Corpus cavernosum recti ermöglicht zusammen mit den Columnae und Sinus den Verschluss des Darmrohres, der auch gasdicht gehalten werden kann. Die Zona haemorrhoidalis wird distalwärts von der Linea dentata gegen die folgenden Zonen begrenzt.

2. Die Zona alba oder intermedia folgt distalwärts in einer Breite von ca. 1 cm bis zur Linea anocutanea. Dieser Bereich ist sehr schmerzempfindlich, mit unverhorntem geschichtetem Plattenepithel ausgekleidet und endet an der äusseren Hautzone.

Nach H. BÜNTE setzt sich das gesamte Kontinenzorgan aus mehreren sensiblen Zonen und einem automatisch gesteuerten, aber willentlich beeinflussbaren Verschlußsystem zusammen.

Die Sensibilität des Enddarmes und des analen Kanals gibt dabei Aufschluss über den Füllungszustand der Ampulle, die Dehnung der Darmwand und den Funktionszustand des Schliessmuskels. Dieses Meldesystem besteht aus drei Komponenten:

1. Dehnungsrezeptoren der Rektumwand geben über den Parasympatikus Aufschluss über den Füllungszustand der Ampulle.

2. Somatische Rezeptoren des Analkanals in der Übergangszone 5 - 10 mm oberhalb der Linea dentata vermitteln die Temperatur, die Wärmeleitfähigkeit und den Zustand des Darminhaltes

3. Rezeptoren der äusseren Haut, welche in den Analkanal bis zur Zona alba hineinreichen, geben Auskunft über Schmerzen verursachende Vorgänge und über den Funktionszustand des Schliessmuskels. Die Impulse dieser somatischen Rezeptoren werden über den

Nervus pudendus und den plexus sakralis vermittelt.

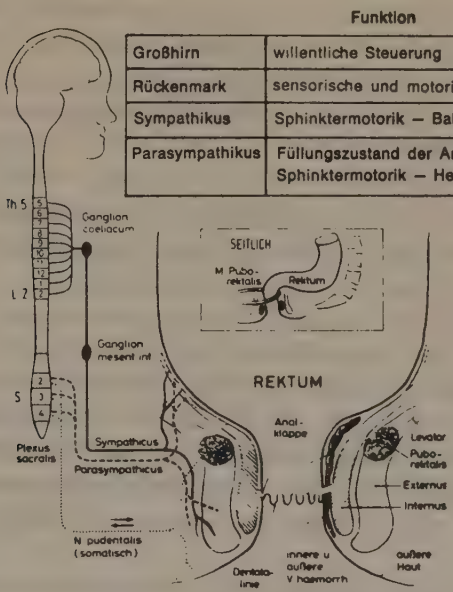


Abbildung 1: Anatomie und Physiologie des Kontinenz-organs (modifiziert nach H. BÜNTE)

Das eigentliche Sphincterorgan besteht dabei im wesentlichen aus drei Muskelgruppen:

1. Der Musculus sphincter ani internus ist ein ganglienfreies Endsegment (STELZNER) und ermöglicht einen wasserdichten Verschluss mit Hilfe der Schwell-

körper, die sich unter der Schleimhaut des Analkanals befinden (Hämorrhoiden). Seine Erschlaffung nach Füllung der Ampulle eröffnet die obere Region des Analkanals, so dass eine Identifizierung des Darminhaltes ermöglicht wird.

2. Die Musculi levator ani und puborectalis, der eigentliche Beckenboden, sind in Ruheposition autonom tonisiert, wobei der Tonus bei intraabdomineller Drucksteigerung automatisch ansteigt. Eine autonome oder willentlich herbeigeführte Kontraktion dieser Muskeln verhindert den Eintritt von Darminhalt in den Analkanal. Beim Erschlaffen dieser Muskeln setzt sich der intraabdominelle Druck in den Analkanal fort und die Defäkation kann nach Erschlaffung der beiden Musculi sphincteres ani internus und externus erfolgen.

3. Der Musculus sphincter ani externus, die kaudale Fortsetzung des M. levator ani, erschlafft automatisch bei Defäkation und unterstützt in Ruhe den Verschluss des Analkanals. Er ist als quergestreifter Muskel dauernd verkürzt, während seine Erschlaffung bei der Defäkation die Ausnahme bildet. Dieses Verhalten steht somit genau im Gegensatz zu dem der übrigen quergestreiften Muskulatur, wobei es ungeklärt ist, ob er ständig in Spannung gehalten wird und dabei Energie verbraucht. Bei willentlicher Kontraktion dieses Muskels wird in den Analkanal eingetretener Darminhalt in die Ampulle zurückgepresst, und eine Defäkation zu einem ungewollten Zeitpunkt verhindert.

Die nervale Versorgung des Kontinenzorgans erfolgt parasympatisch durch das sakralautonome System. Die Fasern aus dem 2. bis 4. Sakralsegment gelangen in den Nervus pudendus und von hier als Nervi splanchnici pelvini zu den Beckengeflechten. Der Sympaticus gelangt ebenfalls über den Nervus pudendus an der Mastdarm. Das sympatische Reflexzentrum im Rückenmark liegt wie bei der Blase in Höhe von Th 11 bis L 3, das parasympatische in Höhe von S 2 bis S 5.

Unabhängig von den einzelnen Ursachen für die Inkontinenz, welche natürlich einer für den Einzelfall jeweils individuellen Therapie bedürfen, ist aus chirurgischer Sicht die Wiederherstellung eines suffizienten muskulären Verschlusses des Analkanals die Lösung des Inkontinenzproblems.

III Klassische Sphincterrekonstruktion durch Transplantation gestielter Muskellappen.

Nach den ersten Versuchen eines muskulären Sphincteraufbaus von CHETWOOD (1902), SHOEMAKER (1909), WREDEN (1929) und STONE (1931) waren es vor allem PICKRELL (1959) und HARTL (1972), welche eine gut durchführbare und zu zufriedenstellenden Ergebnissen führende Methode zur Wiederherstellung der Kontinenz vorschlugen.

Nach den Angaben von PICKRELL wird der Musculus graci-

lis einer Seite freipräpariert, wobei exakt auf die Erhaltung der Innervation und der ernährenden Gefässe zu achten ist. Anschliessend wird der Muskel als gestielter Muskellappen durch einen subkutanen Tunnel zirkulär um das Anorectum geschlungen und mit seinem Ansatz am Periost des Sitzbeinknochens fixiert. Der Nachteil dieses Originalverfahrens liegt darin, dass es technisch häufig nicht einfach ist, den Ansatz des musculus gracilis am tuber ossis ischii zu fixieren und dass die Ernährung dieses langen Muskels infolge seiner unphysiologischen Lage nicht immer einwandfrei sichergestellt ist.

Ein beträchtlicher Fortschritt stellte danach die Modifikation nach HARTL dar, bei der nur die proximalen Anteile der Musculi graciles beider Seiten Verwendung finden. Auch hier ist auf eine genaueste Schonung der den Muskel versorgenden und etwas unterhalb des Schambeins von medial her eintretenden Nerven und Gefässe zu achten. Bei dieser Methode werden nach zirkulärer Umschlingung des Anorectums die beiden Enden des rechten und linken Musculus gracilis unter entsprechender Spannung miteinander vernäht, so dass diese um das Anorectum eng anliegen.

Beide Methoden haben sich nach zahlreichen klinischen Studien bewährt (HOLSCHNEIDER et al.). Jedoch wird immer wieder betont, dass es für eine erfolgreiche Operation von entscheidender Bedeutung ist sowohl die Innervation, wie auch die Gefäßversorgung weitgehend intakt zu belassen.

IV Sphincterrekonstruktion durch freie Transplantation quergestreifter Muskulatur.

Zur operativen Wiederherstellung der Kontinenz wird seit STUDITSKY und BOSOVA (1960) bzw. BOSOVA (1962) nach einer Reihe von erfolglosen Versuchen auch die Anwendung der freien Transplantation quergestreifter Muskulatur propagiert.

Die quergestreifte Muskulatur stellt ein hochdifferenziertes Gewebe dar, welches aus bis zu 15 cm langen Muskelfaserbündeln gebildet wird. Die einzelne Muskelfaser wird von einem Sarkolemmschlauch umhüllt und enthält kontraktile Elemente, Actin- und Myosinfilamente, in einer die mikroskopische Querstreifung bewirkenden streng parallel ausgerichteter Anordnung. Die Kerne dieser grossen Zellen liegen randständig unter dem Sarkolemm. Charakteristisch für die quergestreifte Muskulatur ist die Schnelligkeit ihrer Kontraktion, die erhebliche Kraftleistung, aber auch die rasche Ermüdbarkeit.

Vor Transplantation, so wurde von den Autoren angegeben, ist es erforderlich die Muskulatur in einen "formbaren, plastischen Zustand" zu versetzen, was sie entweder durch vorangehende Traumatisierung oder durch Denervierung erreichen. Dadurch soll die zu transplantierende Muskulatur die Minderversorgung der ersten Phase post transplantationem besser tolerieren.

Unabhängig von den genannten Autoren fand THOMPSON bei Hunden, dass zuvor denervierte Muskulatur mit einigem Erfolg zu transplantieren ist.(THOMPSON 1971)

Die theoretische Hypothese, welche hinter dieser Vorbehandlung der zu transplantierenden Muskulatur steht, ist den Stoffwechsel der Muskelfasern dahingehend zu verändern, dass deren Energiebedarf stark herabgesetzt wird. Hierdurch sollen diese die Zeitspanne vor der einsetzenden Revaskularisierung und damit der herabgesetzten oder vollständig unterbundenen Energieversorgung nach erfolgter Transplantation besser überstehen.

Neben der Denervierung fanden STUDITSKY und Mitarbeiter, dass die mechanische Zerkleinerung des zu transplantierenden Muskels ebenfalls eine Vorbehandlungsmethode darstellt, die zur erfolgreichen, autologen, freien Transplantation von Skelettmuskulatur beiträgt. Dazu wird der zu transplantierende Muskel fein zerkleinert und diese Muskelmasse dann transplantiert. Als wesentlich wird dabei ein möglichst inniger Kontakt zwischen Transplantationsbett und Transplantat erachtet, was durch sorgfältige Entfernung von Fascien und Bindegewebe gewährleistet werden soll.

CARLSON und GUTMAN begannen 1970 eine Reihe von Experimenten an Ratten, bei denen die kontraktilen Eigenschaften der transplantierten Muskulatur untersucht werden sollte. Sie fanden, dass der postoperative Verlauf bei einem klassischen Muskeltransplantat und einem Trans-

plantat zerkleinerter Muskulatur ähnlich ist. Bei der Transplantation des intakten Muskels überleben durchschnittlich 2-5 % der ursprünglichen Muskelfasern in der Peripherie des Transplantats, während in zentralen Abschnitten die Muskelfasern einer ischämischen Nekrose anheimfallen. Bei Transplantaten fein zerkleinerter Muskulatur werden die Myonuclei bereits nach Stunden pyknotisch, während die sog. Satelitenzellen überleben (SNOW 1977). Diese stellen nach SNOW die Vorläuferzellen für die sich regenerierenden Muskelfasern dar.

Eine Regeneration frei transplantierter, zerkleinerter Skelettmuskulatur fand auch CARLSON histologisch anhand von Experimenten mit Ratten und Fröschen. CARLSON stellte dabei, wie auch schon andere Autoren vor ihm erhebliche Unterschiede zwischen der Regeneration der Muskulatur unterschiedlicher Spezies fest.

HAKELIUS konnte in zahlreichen Arbeiten zeigen, dass frei transplantierte, intakte Muskulatur zumindest zum Teil überlebt oder regeneriert, so dass diese Methode in der wiederherstellenden Chirurgie Verwendung finden kann.

V Sphincterrekonstruktion durch freie Transplantation glatter Muskulatur

Die glatte Muskulatur unterscheidet sich rein morphologisch bereits von der quergestreiften, sog. Skelettmus-

kulatur. Sie besteht aus spindelförmigen Zellen, welche durch Basallaminae und Bindegewebe, das strumpfartig die Muskelfasern umschliesst, zusammengehalten werden. Die Zellmembranen benachbarter Muskelzellen sind durch Kontakte wie z.B. maculae occludentes miteinander verbunden, über die der elektrotonische Stromfluss - die Erregungsausbreitung - stattfindet. Intrazellulär finden sich gebündelte Myofibrillen, welche die Zellen in der Längsachse durchziehen. Die Kerne sind mittelständig gelegen und verformen sich korkenzieherartig bei der Muskelkontraktion. Den Myofibrillen liegen Actin- und Myosinfilamente zugrunde, die in der Längsachse der Zellen angeordnet sind, aber keine charakteristische Verteilung der Bestandteile aufweisen, wie dies bei der quergestreiften Muskulatur der Fall ist. Obwohl der Kontraktionsmechanismus nicht so exakt bekannt ist, wie bei der quergestreiften Muskulatur, wird angenommen, dass auch hier die Actin- und Myosinfilamente bei der Kontraktion übereinandergleiten.(JENSON 1976, SHEPARD 1971)

Neben diesen morphologischen Unterschieden und einer erheblichen Variabilität der Zellängen (20 - 500 m) zeichnet sich die glatte Muskulatur vor allem in ihrem Kontraktionsablauf, ihrem Kontraktionsverhalten und ihrer Erregbarkeit zur Kontraktion aus. Glatte Muskulatur kann ausser durch nervale Impulse insbesondere im Bereich des Magen-Darm-Traktes auch durch passive Dehnung zur Kontraktion veranlasst werden. Die Kontraktion ist dabei langsam und die glatte Muskelzelle kann in einer Teilverkürzung verharren, welche als Tonus be-

bezeichnet wird. Die mechanische Dehnung oder Streckung der glatten Muskulatur ist ein potenter Stimulus auch gegenüber nicht innervierter glatter Muskelzellen und führt zunächst zu einer Abnahme des Ruhemembranpotentials bis zum Schwellenpotential und nachfolgend zur Ausbildung eines Aktionspotentials. Darüberhinaus führt die Dehnung der glatten Muskulatur zu einem verstärkten Tonus (GANONG). Dieser stellt hierbei von Natur aus keinen Reflex dar. Er hängt nicht von intakter Innervation ab und kann wohl als Dauerkontraktion beschrieben werden, welche aufhebbar ist.

Projeziert auf das Problem der Kontinenz bzw. der Wiederherstellung nicht mehr oder noch nie vorhandener Kontinenz, insbesondere Analkontinenz, ergaben sich für E.SCHMIDT und Mitarbeiter (1978) folgende Überlegungen:

Die bisherigen muskulären Rekonstruktionsversuche stützen sich auf den Ersatz der Sphincteres ani externus und internus durch Skelettmuskulatur.(Kap.III, IV) An die Skelettmuskulatur, betrachtet man deren Funktionsweise, werden hierbei nach SCHMIDT funktionelle Anforderungen gestellt, denen besser die Verwendung glatter Muskulatur gerecht werden könne. Glatte Muskulatur besitzt danach eine gegenüber der Skelettmuskulatur stärker ausgeprägte Halteökonomie. Sie ist trophisch anspruchsloser und atrophiert nicht nach Denervierung. Darüberhinaus besteht das Argument, dass natürliche Sphincteren grösstenteils aus glatter Muskulatur aufgebaut sind.

Insbesondere die glatte Muskulatur des Magen-Darm-Traktes erschien SCHMIDT und Mitarbeitern (1979) besser geeignet zur physiologischen Rekonstruktion von Sphincteren.

Hierzu wurden zunächst in verschiedenen Tierversuchen und dann auch beim Menschen Dickdarmabschnitte reseziert und von der Schleimhaut befreit. Diese seromuskulären Schläuche wurden anschliessend auf einen intakten Darmabschnitt anusnahe aufgenäht.

Die Autoren beschreiben, dass das Transplantat gut anheilt und komplikationslos zu einem intakten Sphinkter führt. Darüberhinaus fanden SCHMIDT und Mitarbeiter (1980), dass neben einer ubiquitären Gefässeinsprossung auch eine Persistenz der Plexus submucosus und myentericus sowie eine Einsprossung vevegetativer Nerven histologisch nachweisbar waren. Sie fanden eine "erstaunliche histologische Konstanz freitransplantierter, zwischen der 4. Woche und dem 18. Monat wieder ausgebauter Schliessmuskelplastiken, ohne zelluläre Infiltration, bindegewebige Umwandlungen oder irgendwelche Nekrosen." In einer weiteren Arbeit dieser Gruppe aus dem Jahre 1979 wird allerdings eine histologisch häufig feststellbare mässige Fibrose sowie eine deutlich verminderte Anzahl an Ganglienzellen diskutiert.

VI Programm und Zielsetzung

Anhand eines Tiermodells sollten diese in sich nicht völlig widerspruchsfreien Ergebnisse sowohl bei der freien Transplantation glatter, wie auch quergestreifter Muskulatur überprüft werden. Hierzu wurden 72 Wistar Ratten der Firma THOMAE, Biberach, mit einem Alter von durchschnittlich 80 Tagen und einem Körpergewicht zwischen 255 und 390 g gewählt.

Als Versuchstiere wurden deshalb Ratten gewählt, da deren Regenerationsfreudigkeit, nach CARLSON, die anderer Versuchstiere bei weitem übertrifft. So findet man bei Ratten eine über doppelt so rasche Revaskularisierung und Reinnervation nach Transplantation, wie bei Fröschen, und diese Vorgänge laufen nach CARLSON bei Ratten sogar sechsmal rascher ab, als bei Katzen. Nach 30 Tagen sollen sämtliche Umbauprozesse in den Transplantaten bereits abgeschlossen sein, so dass bezüglich des Faktors Zeit die von uns gewählten Versuchstiere optimal sein müssten. Darüberhinaus bereiten Ratten gegenüber anderen Versuchstieren wesentlich geringere immunologische Probleme, vertragen eine Äthertropfnarkose relativ gut und sind auch in Bezug auf die anzuwendende Sterilität während der Operation extrem anspruchslos.

Bei den meisten Tieren wurde unmittelbar nacheinander sowohl eine Transplantation quergestreifter, wie glatter Muskulatur vorgenommen.

Die Transplantation quergestreifter Muskulatur erfolgte in zwei Phasen. In der ersten Sitzung wurde nach Präparation des M. adductor magnus seine Fascie gespalten und anschliessend, nach Darstellung des Nervus tibialis, welcher unter anderem den später zu transplantierenden Musculus soleus versorgt, dieser durchtrennt und zur Vermeidung einer allzu raschen Reanastomosierung ein kurzes Teilstück reseziert.

14 Tage nach der Denervierung, analog den Ergebnissen von LIGGINS und FINSETH (1982), wurde dann die eigentliche Transplantation durchgeführt. Hierzu wurde nach Narkose und Präparation des m. soleus aus dessen Muskelbauch ein 1.5 cm langes Teilstück entnommen, in einem Bad mit Ringer-Lösung konserviert und nach Verschluss der Wunde der musculus flexor digitorum des anderen Beines freigelegt. In eine stumpf präparierte Loge dieses Muskels wurde das kontralateral entnommene Teilstück des m. soleus Seit-zu-Seit fixiert. Die einzelnen Präparate wurden dabei ausgehend von einer Ruhelänge, entsprechend 0% Vordehnung, zum Teil vor der endgültigen Fixierung in ihrem Transplantationsbett um 1/4 bzw. 1/2 ihrer Ausgangslänge gestreckt, entsprechend 25% bzw. 50% Vordehnung. Bei sämtlichen Tieren erfolgte die Denervierung und die Entnahme des Transplantats an der <u>linken</u> hinteren Extremität und die Implantation wurde an der <u>rechten</u> hinteren Extremität durchgeführt.

Nach Wundverschluss erfolgte die Transplantation glat-

ter Muskulatur. Nach medianer Laparatomie wurde zunächst das Colon ascendens dargestellt und ein kurzer Abschnitt mobilisiert. Nach Präparation der zugehörigen Gefässarkade wird ein Segment skelettiert und anschliessend reseziert. Dieses Präparat wird analog zum Skelettmuskelpräparat in Ringer-Lösung konserviert. Nach End-zu-End Anastomosierung und Freigabe der Darmpassage wurde der resezierte Colonzylinder gereinigt und der Mesenterialansatz sowie anhängendes Fettgewebe entfernt. Nach Wendung des Präparats erfolgte die Abpräparation der Mucosa in der Submucosa vom den daruntergelegenen Muskelschichten. Anschliessend erfolgte die Längsinzision der Präparate, wodurch diese auf ihre Ruhelänge, entsprechend 0% Vordehnung, schrumpften.

Die so gewonnenen seromuskulären Präparate wurden nun nach Darstellung und entsprechender Vorbereitung des Colon descendens in einer Höhe von 7 cm proximal der Mucocutangrenze um das intakte Darmrohr gelegt und fixiert. Ein Teil der Präparate wurde vor der endgültigen Fixierung um ein Vielfaches der Ruheausgangslänge gestreckt: Um die Hälfte, eine gesamte Ausgangslänge, die eineinhalbfache Ausgangslänge und die doppelte Ausgangslänge, entsprechend einer Vordehnung von 50, 100, 150 und 200%. Es wurde dabei zumeist darauf geachtet, dass Serosa auf Serosa zu liegen kam.

Im postoperativen Verlauf kam es bei insgesamt 10 Tieren teils operationsbedingt, teils durch Infektion zu Komplikationen, wobei hierdurch bei insgesamt 5 Tieren die zunächst geplante Überlebenszeit begrenzt wurde. Bei al-

len Tieren mit einer Vordehnung der glattmuskulären Transplantate gleich oder grösser 150% wurden Bougierungen des Enddarmes zur Vermeidung eines Ileus durchgeführt.

Entsprechend dem Modell von CARLSON und GUTMANN (1975) wurden die Tiere am 5., 10., 20., 40. und 60. postoperativen Tag getötet und die Transplantate zur histologischen Untersuchung entnommen. Die Zeitabschnitte wurden deshalb so gewählt, weil CARLSON bereits vor dem fünften postoperativen Tag nachweisbare erste Regenerationserscheinungen beschrieb. Am 10. und 20. Tag soll der weitere Verlauf der Regeneration beobachtbar gewesen sein und diese soll zwischen dem 40. und 60. Tag abgeschlossen gewesen sein. Diese Einteilung ist jedoch nur für die Transplantation und den postoperativen Verlauf bei quergestreifter Muskulatur erstellt. Für die glattmuskulären Transplantate gibt es hierzu keine genaueren Untersuchungen, SCHMIDT (1981) beschreibt jedoch elektronenmikroskopische Untersuchungen glattmuskulärer Transplantate beim Menschen, wo bereits nach 48 Stunden eine erkennbare Gefässeinsprossung festgestellt worden sein soll. Nach einem Zeitraum von 4 Monaten soll es zu einer vollständigen Integration der Transplantate gekommen sein.

Sämtliche Präparate, sowohl die nach Transplantation glatter als auch quergestreifter Muskulatur wurden nach Entnahme in 4fach verdünntem 40%igem Formalin fixiert, wobei leider nur ein Teil der "Darmpräparate" ausreichend aufgespannt worden war, so dass es bei dem anderen Teil zu einer stärkeren Ringelung kam, was die An-

fertigung auswertbarer Schnitte erschwerte. Nach Härtung und Entwässerung erfolgte die Einbettung in Paraffin über Methylbenzoat.

Hiervon wurden Serien von 5 m dicken Schnitten mit jeweils 25 m bis 50 m Abstand gefertigt und diese Schnitte nach entsprechender Vorbereitung (Entparaffinisierung und Wässerung) bei den Präparaten mit Skelettmuskulatur mit Hämatoxilin-Eosin und zur Darstellung des Bindegewebes nach GOLDNER gefärbt. Bei den Präparaten, welche nach Transplantation glatter Muskulatur gewonnen wurden, erfolgte eine Färbung mit Hämatoxilin-Eosin als Standardfärbung, sowie eine Elastika-Färbung nach van GIESON und eine Versilberung nach PALMGREEN zur Darstellung der Neurofibrillen. Darüberhinaus wurde bei allen Präparaten eine Silberimprägnation nach GOMORI durchgeführt.

Als Fragestellungen für die histologische Untersuchung erschienen neben dem allgemeinen postoperativen Schicksal der Transplantate folgende Gesichtspunkte von Bedeutung:

Findet eine Revaskularisation und eine Reinnervation der quergestreiften Muskeltransplantate statt?

Von welchen Gebilden geht eine solche Regeneration aus und führt dies zu einem Überleben oder zu einer Regeneration quergestreifter Muskulatur?

Ist eine mögliche Regeneration eines autolog heterotop transplantierten, quergestreiften Muskels beein-

flußbar durch die erfolgte Vordehnung?

Kann eine Revaskularisation und eine Reinnervation der glattmuskulären Transplantate festgestellt werden?

Von welchen Strukturen geht eine solche Regeneration bei der glatten Muskulatur aus und ist dadurch eine Regeneration oder eine Persistenz der glattmuskulären Transplantate möglich?

Besteht eine Abhängigkeit einer möglichen Regeneration von der erfolgten Vordehnung der Präparate vor Transplantation?

Darüberhinaus sollten die Anastomosen und der Einfluss der Denervierung ohne Transplantation (Mm. flexores digitorum) histologisch untersucht werden.

VII Histologische Befunde

Quergestreifte Muskulatur
- Musculus soleus links -

Es lagen Präparate von insgesamt 39 transplantierten Tieren vor, die sich nach der Überlebenszeit post transplantationem und nach der erfolgten Vordehnung der Transplantate in drei Hauptgruppen einteilen lassen:

Gruppe	Vordehnung	Überlebenszeit	Tier Nr.
		5 d	15,16,21
		10 d	11,12,13
I	0 %	11 d	106
		20 d	39,40,45
		40 d	27,28,29
		53 d	107
		5 d	17,18,23
		10 d	4,14,22
II	25 %	20 d	42,43,44
		33 d	103
		40 d	33,34,35
		5 d	24,25,26
III	50 %	10 d	1, 2, 3
		20 d	46,47,48
		40 d	36,37,38

Tabelle 1 : Transplantation quergestreifter Muskulatur

Darüberhinaus lagen von drei Tieren (31,32,41) Vergleichspräparate vor, ohne Denervierung und ohne Transplantation.

Betrachtet man zunächst die histologische Gruppe I, bei der eine Transplantation ohne Vordehnung des Transplantats erfolgte, so fand sich bei den Präparaten nach einer Überlebenszeit von 5 Tagen eine weitgehende Hyalinisierung der noch nachweisbaren Muskelzellen. Dies ging

einher mit einem Verlust der Querstreifung, also molekular mit dem Verlust der geordneten Anordnung der Actin- und Myosinfilamente.(Abb. 3) Es zeigte sich weiterhin eine degenerative Kernschwellung mit blasig veränderten Kernen und einer vermeintlichen Kernvermehrung bei dünnen, unregelmässigen Sarkolemmschläuchen. Um die Muskelzellen, bzw. deren Reste fanden sich massenhaft Zellen, deren Lage sicher extravasal war und die bei stärkeren Vergrösserungen in segmentkernige Granulozyten und grosse Zellen mit grossem rundlichem Kern geringerer Chromatindichte - Makrophagen - differenzierbar waren.(Abb. 2) In der Peripherie der Präparate fanden sich intakte quergestreifte Muskelfasern, welche vermutlich von anhaftenden Resten des als Transplantationsbett dienenden rechten musculus flexor digitorum stammten.

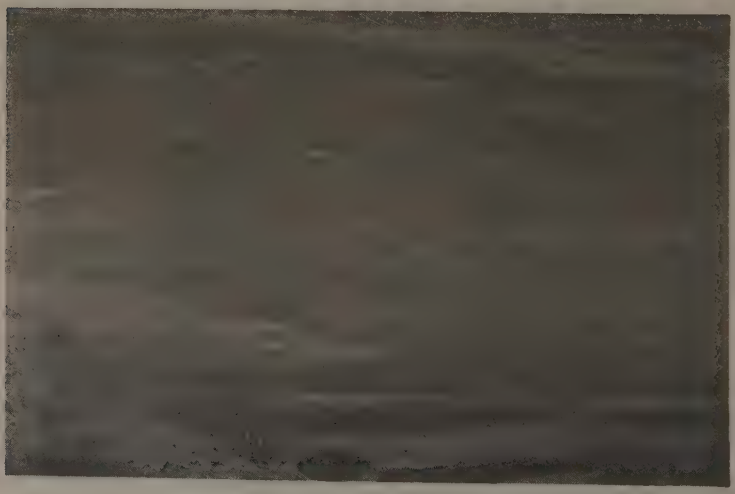
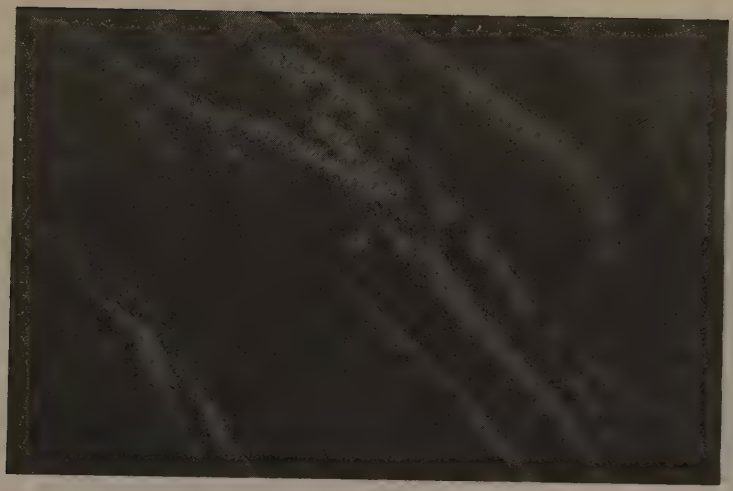
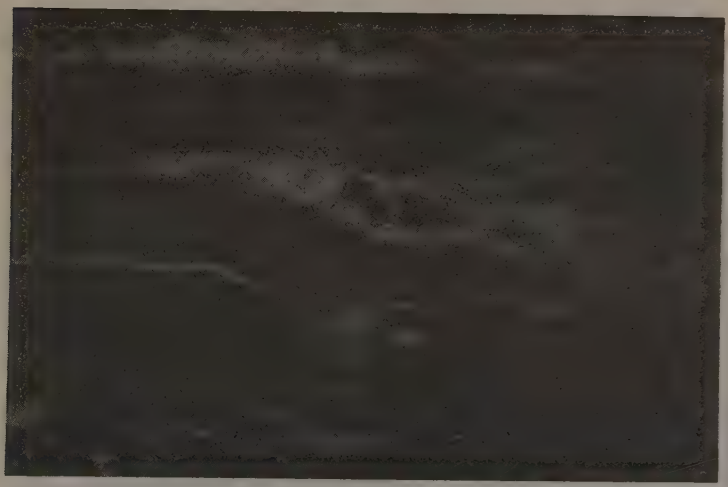


Abbildung 2: M. soleus, 5 Tage post transplantationem. (H.E. 256 X)





Abbildungen 3 und 4: M. soleus, 5 Tage post transplantationem (H.E. 640 X)

Abbildung 5: M. soleus, 5 Tage post transplantationem (H.E. 640 X)

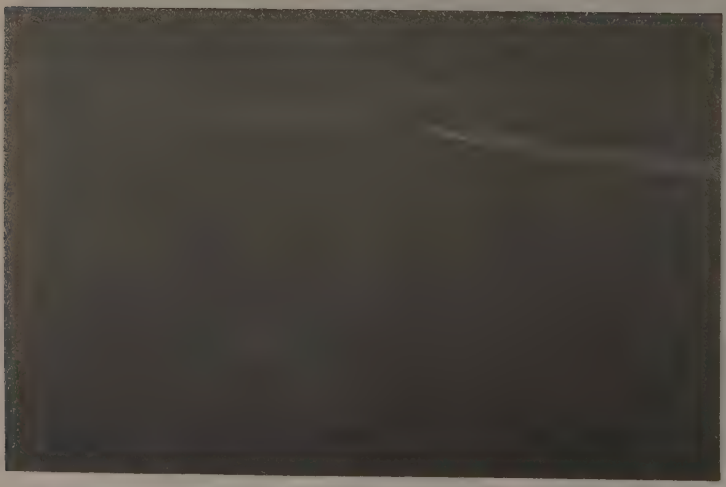


Abbildung 6 : M. soleus - Vergleich -, ohne Denervierung und ohne Transplantation.

Bei den Überlebenszeiten von 10 Tagen waren neben dem noch immer augenfälligen Zellreichtum an Granulozyten und Makrophagen bereits zahlreiche spindelzellkernige Zellen und in den Färbungen nach GOLDNER sowohl "unreifes", orange-rotes Bindegewebe, als auch vereinzelt reife, grün angefärbte Kollagenfasern zu erkennen.(Abb. 7,8) Daneben fand sich immer wieder braunes, körniges Material - Lipofuszinpigment -. Im gesamten Bereich des Transplantats waren bereits zahlreiche Gefässanschnitte, wie bei Gefässneubildung zu erkennen. Inwieweit diese Neubildung ihren Ausgang von Basalmembranen alter Gefässe nahm war nicht sicher festzustellen. Bei einer relativ stärker ausgeprägten Gefässvermehrung in der Peripherie der Präparate ist jedoch deren Ausgangspunkt bei den intakten Gefässen des Transplantationsbettes zu vermuten.(Abb. 7)

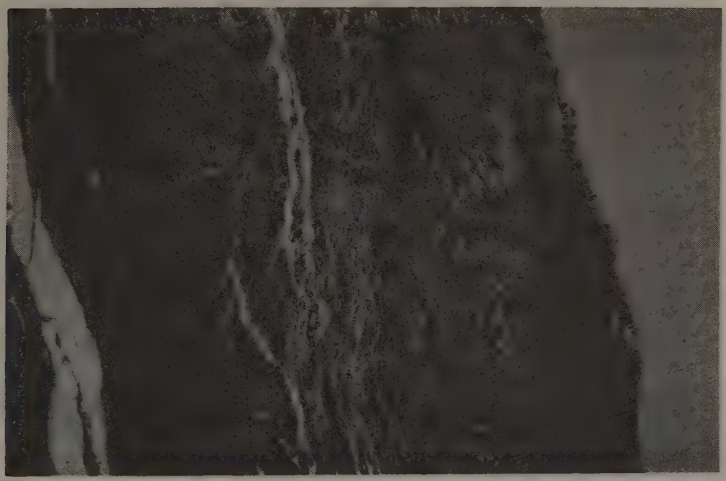


Abbildung 7: M. soleus, 10 Tage post transplantationem (GOLDNER 101 X)

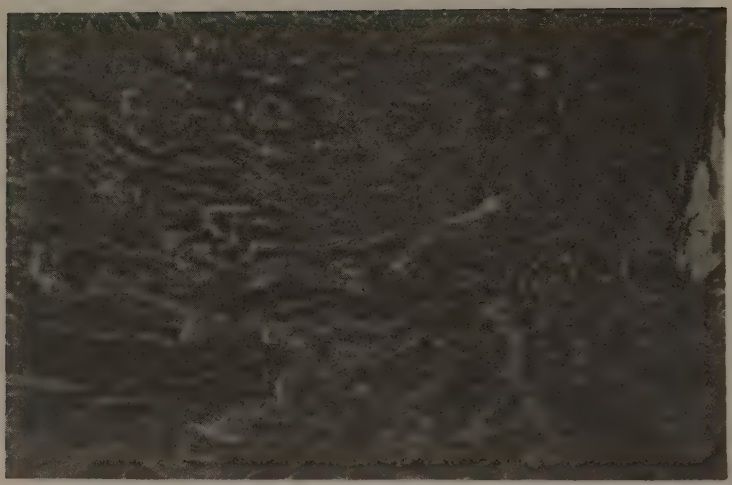


Abbildung 8: M. soleus, 10 Tage post transplantationem (GOLDNER 256 X)

Bei den Überlebenszeiten von 20 Tagen und bei längeren Überlebenszeiten nach erfolgter Transplantation ohne vorhergehende Vorbehnung des Transplantats liess sich in zunehmendem Masse ein immer zell- und gefässärmeres Bindegewebe, insbesondere bei der Färbung nach GOLDNER, von randständigem, intaktem Muskelgewebe abgrenzen. Zu diesem Zeitpunkt, oder bereits etwas früher kann man von sistierender Revaskularisation ausgehen.(Abb. 9)

In einzelnen Schnitten fanden sich dünne Muskelzellen mit nicht ganz randständigen Kernen und nur schwach erkennbarer Querstreifung. Inwieweit dieses Phänomen auf möglicherweise aus überlebenden Myoblasten oder sog. Satel-

litenzellen neu entstandene Muskelzellen zurückzuführen ist, liess sich nicht sicher entscheiden. Eine geringfügige Regeneration erscheint jedoch nicht völlig ausgeschlossen, ohne dass sich diese nach dem histologischen Befund funktionell auszuwirken vermag.

Im Übrigen fand sich nach anfänglich nachweisbarem Ödem und der beschriebenen initialen Entzündungsreaktion bei allen Präparaten eine reizlose, narbige Abheilung des erfolgten Eingriffs.(Abb. 10)

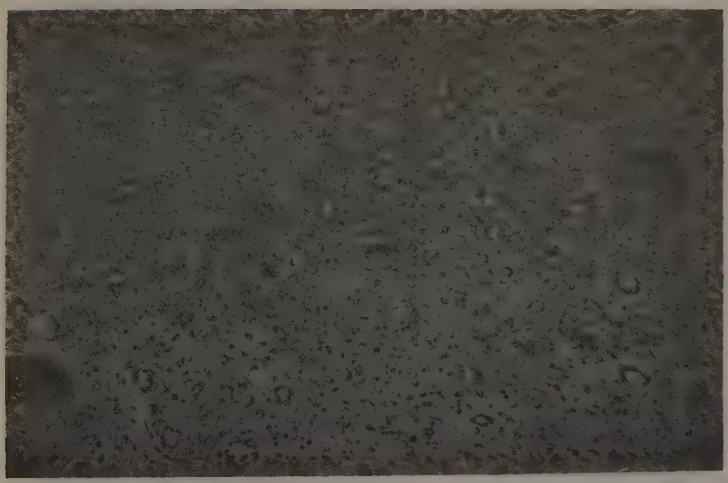


Abbildung 9 : M. soleus bei Überlebenszeiten von 20 Tagen (GOLDNER 256 X).

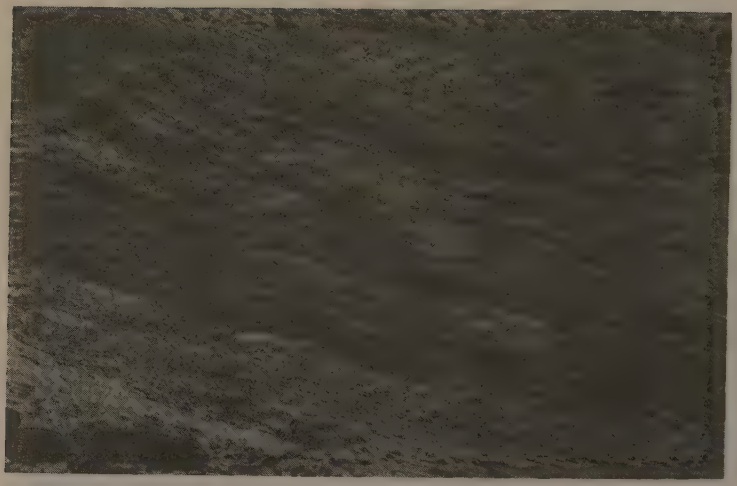


Abbildung 10: M. soleus, 20 Tage post transplantationem
(GOLDNER 256 X)

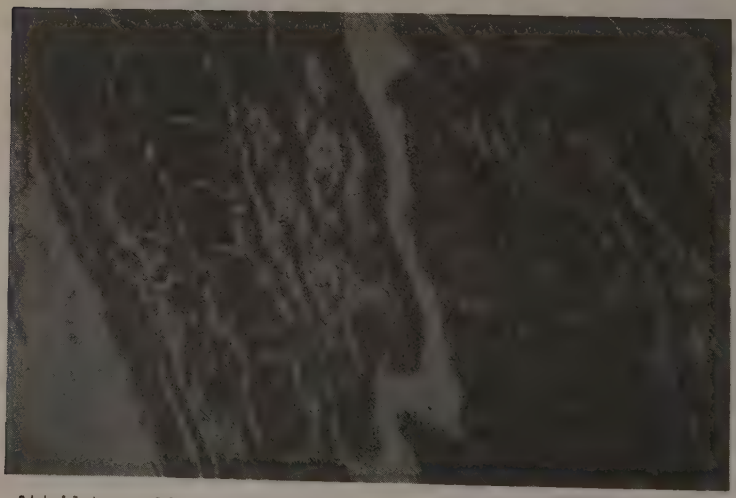


Abbildung 11: M. soleus, 40 Tage post transplantationem
(H.E. 101 X)

Betrachtet man nun die Auswirkung der unterschiedlichen Vordehnung der Transplantate, so waren je nach Überlebenszeit die gleichen Phasen des Umbaus untergehender Muskelzellen zu Bindegewebe zu erkennen. Diese wurden jedoch in kürzerer Zeit durchlaufen.

So fanden sich bereits eine Anzahl von spindelzellkernigen Zellen bei Überlebenszeiten von 5 Tagen bei noch deutlichen Zeichen einer Entzündungsreaktion mit zahlreichen Granulozyten und Gewebsmakrophagen.(Abb. 12,13)

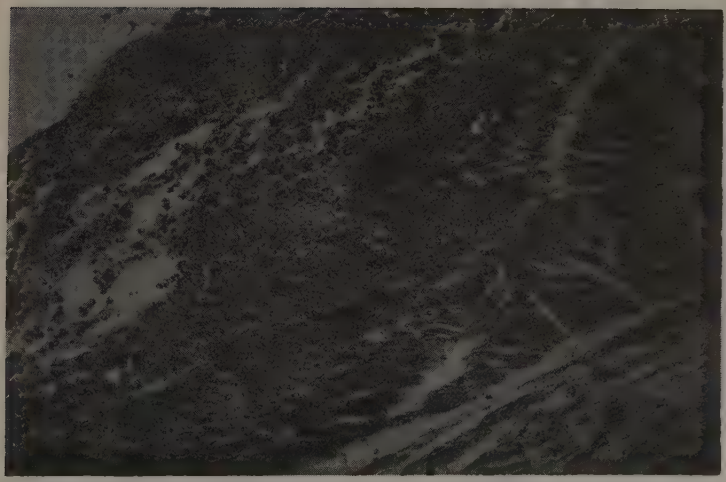


Abbildung 12 : M. soleus 5 Tage post transplantationem und 25 % (H.E. 256 X).

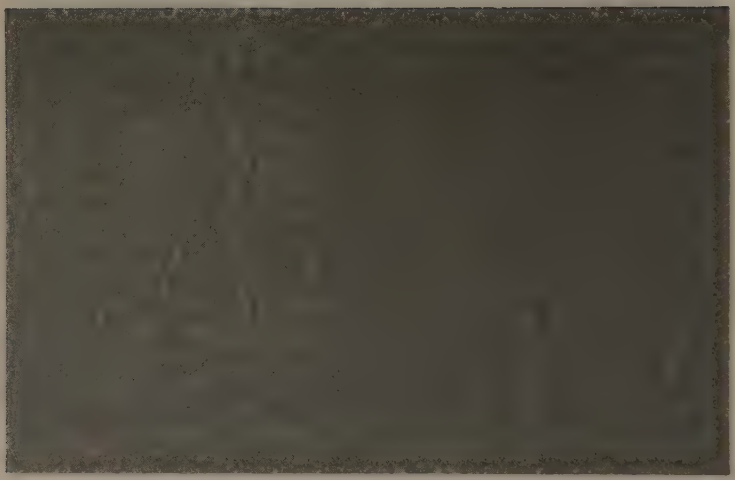
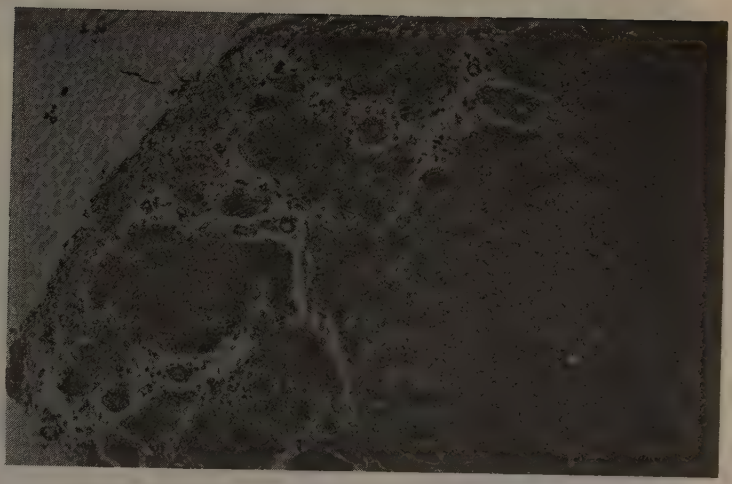
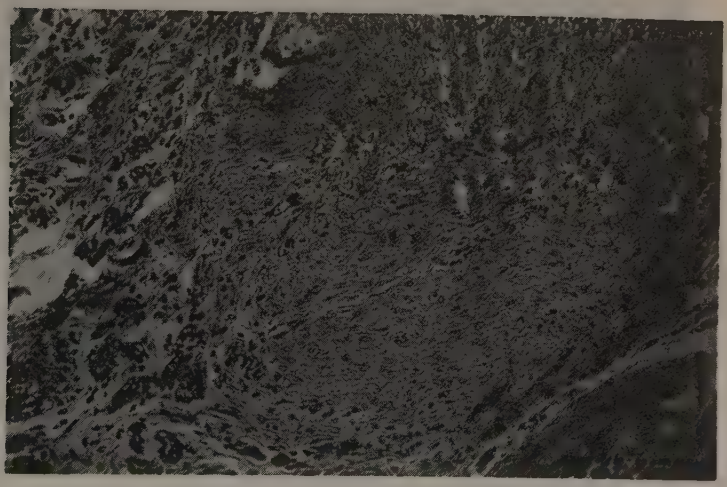


Abbildung 13: M. soleus 5 Tage post transplantationem und 50 % Vordehnung (H.E. 256 X)

Bei Überlebenszeiten von 10 Tagen fanden sich dagegen nur mehr wenige Granulozyten und auch der Abtransport der untergegangenen Muskulatur war weitgehend abgeschlossen. Bei den Präparaten mit vor Transplantation stattgehabter Vordehnung waren im Bereich des Bindegewebes nur noch bei 25 % Vordehnung intakten Muskelzellen wie bei Regeneration nachweisbar.(Abb. 14,17) Dagegen vermeinte man eine geordnetere Ausrichtung der Kollagenfaserbündel zu erkennen im Vergleich mit nicht vorgedehnten Transplantaten.(Abb. 18,19)





Abbildungen 14 u. 15: M. soleus 10 Tage post transplantanem und 25 % bzw. 50 % Vordehnung (H.E. bzw. GOLDNER 256 X).

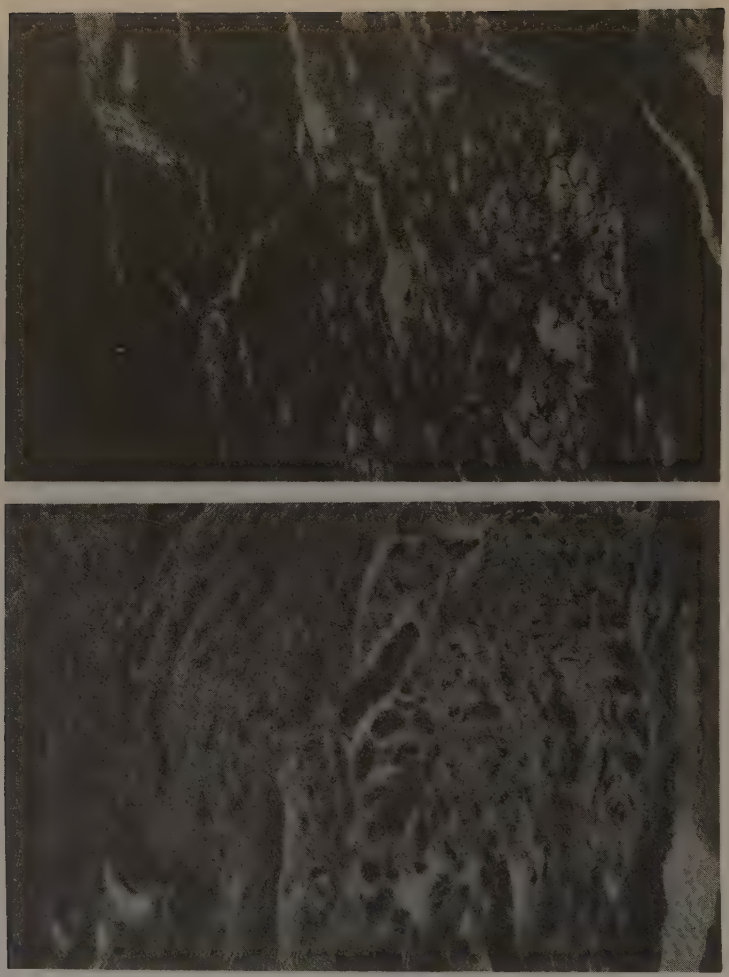
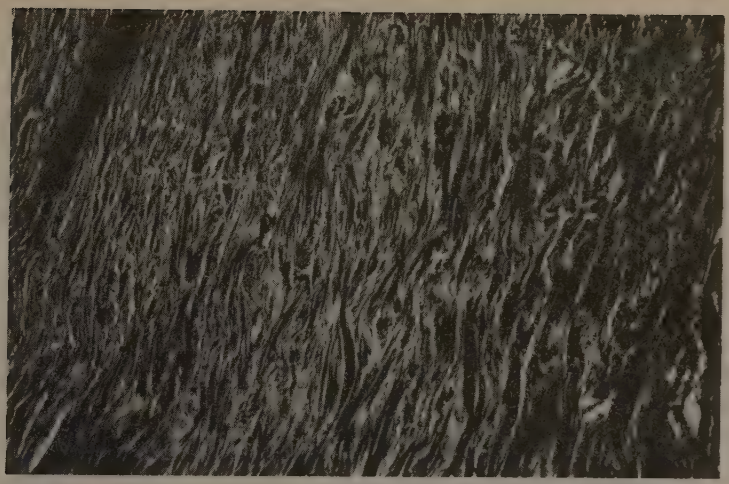
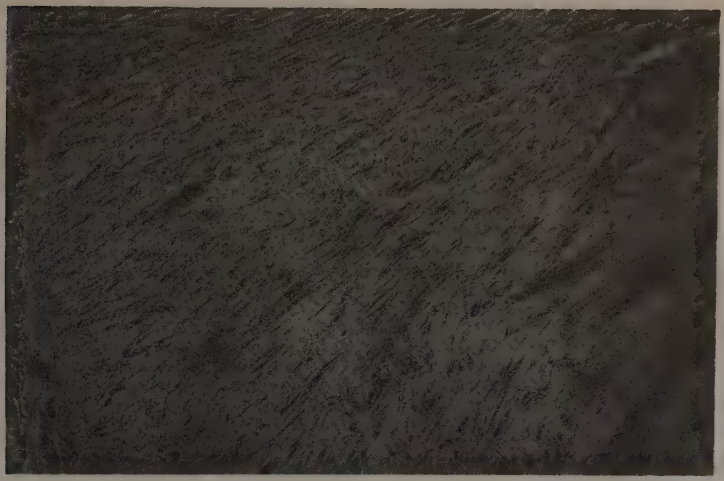


Abbildung 16: M. soleus, 20 Tage post transplantationem und 25 % Vordehnung (H.E. 256 X)

Abbildung 17: M. soleus, 40 Tage post transplantationem und 25 % Vordehnung (GOLDNER 640 X)





Abbildungen 18 u. 19: M. soleus, 20 Tage post transplantationem und 25 % bzw. 50 % Vordehnung. (GOLDNER 256 X)

Ursprünglich vorhandene Nervenfasern bzw. Reste motorischer Endplatten konnten bereits bei Überlebenszeiten von 5 Tagen nicht mehr nachgewiesen werden. Eine Einsprossung von Nerverfasern konnte an keinem der untersuchten Präparate nachgewiesen werden.

Die zum Vergleich dienenden Muskelpräparate der rechten Musculi flexores digitorum und der nicht denervierten und nicht transplantierten Tiere waren in sämtlichen Schnitten ohne pathologischen Befund, wobei insbesondere keine Entzündungszeichen oder Zeichen degenerativer Veränderungen nachgewiesen werden konnten.

Quergestreifte Muskulatur
- Musculus flexor digitorum links -

Bei den Musculi flexores digitorum links war zusammen mit der Denervierung zur Transplantationsvorbereitung der Musculi solei eine Denervierung erfolgt, ohne dass diese Muskeln später transplantiert worden waren. Bei den Präparaten mit Überlebenszeiten von 5 Tagen waren bereits deutliche denervierungsatrophische Zeichen erkennbar. Es fanden sich unterschiedlich dicke Muskelfasern, wobei bei den dünneren eine scheinbare Kernvermehrung und Schwellung der Kerne erkennbar waren.(Abb. 20) Bei den längeren Überlebenszeiten zeigte sich eine vermehrte bindegewebige Durchsetzung der Muskelfaserzüge im Vergleich mit Präparaten nicht denervierter Muskula-

tur. Die noch vorhandenen Muskelfasern waren jedoch wieder völlig ohne krankhaften Befund und wiesen intakte Sarkolemmschläuche gleicher Dicke mit randständigen Zellkernen und einer regelrechten Querstreifung auf.(Abb. 21)

Diese Befunde lassen sich nur durch eine erfolgte Reinnervation erklären. Ob dies durch eine Nervenregeneration aus dem Teilresezierten nervus tibialis bedingt war, konnte anhand der vorliegenden Präparate nicht entschieden werden. Es fanden sich jedoch in keinem der untersuchten Schnitte, auch bei den kurzen Überlebenszeiten Zeichen einer Nerverfaseraussprossung in Form von stärker geschlängelten, bündelig angeordneten Neurofibrillen.

Abbildung 20: M. flexor digitorum, 34 Tage nach Denervierung (H.E. 640 X).

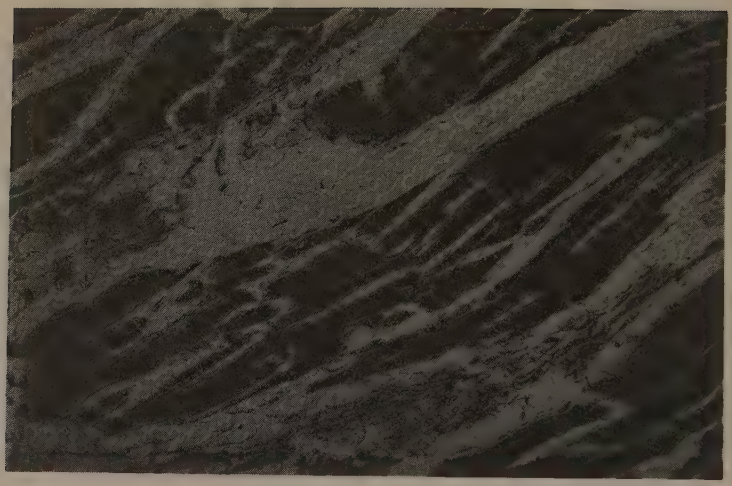


Abbildung 21: M. flexor digitorum 54 Tage nach Denervierung (H.E. 101 X)

Abbildung 22: M. flexor digitorum ohne Denervierung. (H.E. 256 X).

Glatte Muskulatur
- Anastomose -

Bei insgesamt 59 Tieren wurde ein Teilstück des Colon ascendens reseziert und die verbleibenden Colonstümpfe End-zu-End anastomosiert. Je nach Überlebenszeit der Tiere lassen sich die Präparate folgendermassen einteilen

Überlebenszeit	Tier Nr.
5 d	15,16,17,21,23,24,25,26,32
10 d	1, 2, 3, 4,11,12,13,14,22. 31,51,52,70,71,72,73
11 d	106
20 d	39,40,41,42,43,43,44 55,58,64,65,66,67
28 d	104
33 d	102,103
40 d	27,28,29,33,34,35,53 56,101,60,61,62,63
53 d	107
60 d	54,57,105
160 d	59

Tabelle 2 : Dickdarmanastomose

Für die Beurteilung des Anastomosenbereichs wurden Präparate von Tieren mit Überlebenszeiten bis zu 60 Tagen herangezogen, da bereits zwischen 40 und 60 Tagen Überlebenszeit histologisch keine Unterschiede mehr feststellbar waren.

Bei einer Überlebenszeit von 5 Tagen fanden sich im Bereich der Anastomose bereits deutliche Zeichen einer leukozytären Reaktion. Diese Ansammlungen insbesondere von segmentkernigen Leukozyten und Makrophagen fanden sich vor allem in der Serosa und äusseren Anteilen der Muskelschichten. Die Submukosa war ödematös verdickt, ebenso wie die Serosa. Die Kerne der Längs- und Ringmuskelschichten erschienen in unmittelbarer Umgebung der Anastomose geschwollen und teilweise deformiert. Darüberhinaus fand sich bei einzelnen Präparaten eine geringfügige Fibrinauflagerung auf der Serosa.(Abb. 23,24)

Ausgehend von der Submukosa, bzw den dort vorhandenen Blutgefässen und Kapillaren konnte man bereits bei diesen Überlebenszeiten von 5 Tagen eine beginnende Gefäßneubildung in Form von zahlreichen teils geschlängelten Anschnitten von Kapillaren erkennen.

Im Bereich von Fadenresten und von pflanzlichen Fremdkörpern, welche sehr wahrscheinlich bei der Eröffnung des Darmes zur Colonresektion in Bezirke ausserhalb des Darmlumens gelangt sind, waren Mikroabszesse erkennbar mit reichlich Granulozyten und zentralem, vermutlich eitrigem Zerfall. Diese Abszesse waren kugelig konfiguriert und wiesen in ihren Randbezirken neben einer

epitheloidzelligen Abgrenzung gegen das umgebende Gewebe eine starke Blutfülle der Gefässe auf. Die Nervengeflechte und Ganglienzellen des Plexus myentericus und des Plexus submucosus zeigten keine auffälligen Befunde, insbesondere keine erkennbare Ganglienzellverarmung oder morphologische Ganglienzellveränderungen.

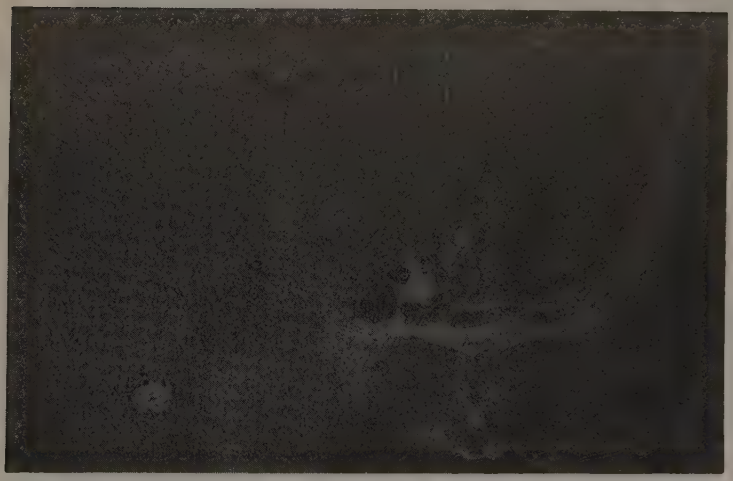


Abbildung 23: Anastomose, 5 Tage post operationem
(H.E. 101 X)

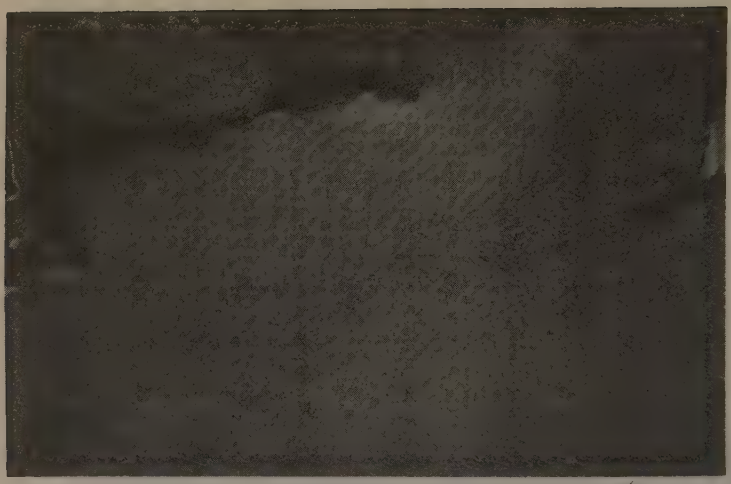
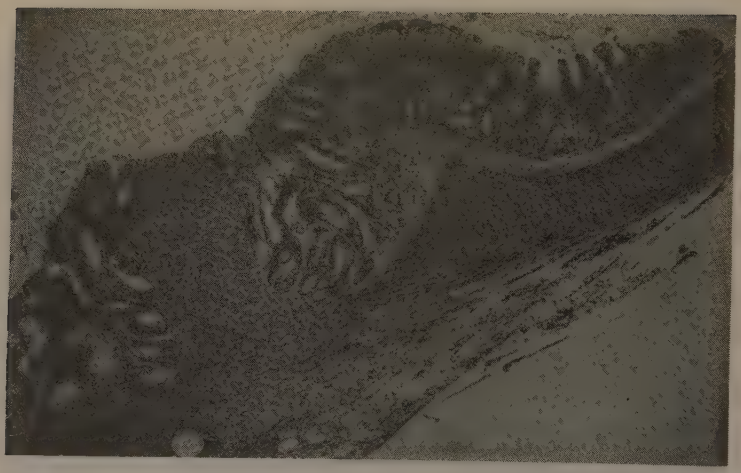


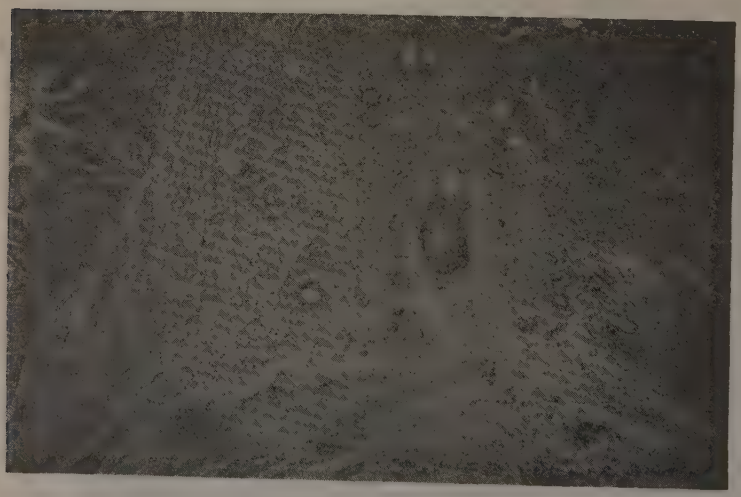
Abbildung 24: Anastomose, 5 Tage post operationem
(VAN GIESON 101 X)

Bereits bei Überlebenszeiten von 10 Tagen fand sich ein deutlich ausgeprägtes Granulationsgewebe im Übergang zu gefäss- und zellarmem Bindegewebe im Anastomosenbereich und hier vor allem im Bereich der Submucosa. Granulozytenansammlungen waren nicht mehr nachweisbar, dafür fanden sich sowohl in den Tunicae musculares, wie auch stärker ausgeprägt in der Submucosa zahlreiche Gefässanschnitte und spindelzellkernige Zellen sowie eine bereits deutliche Faservermehrung. Auch die Serosa war zellärmer, wiewohl nunmehr durch Faservermehrung verdickt.

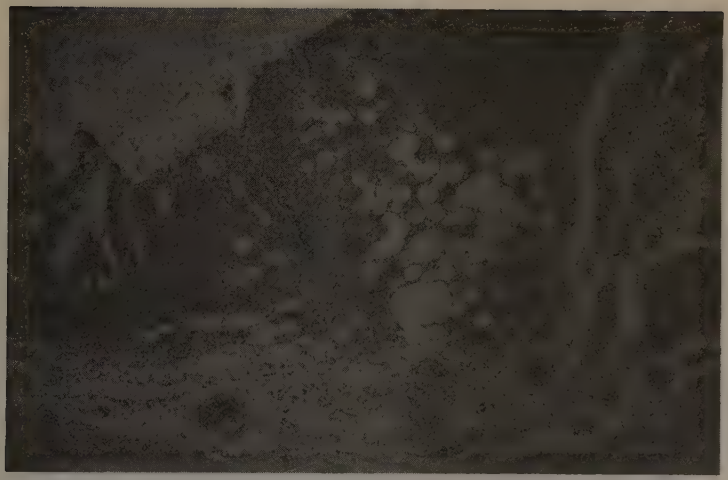
Im Bereich von Fadenresten und Darminhaltresten fanden sich Granulome mit epitheloidzelliger Begrenzung gegen das übrige Gewebe und zahlreichen mehrkernigen Riesenzellen.(Abb. 30) Der Anastomosenbereich bei den Tieren 1 und 2, welche wegen eines zu eng angelegten Mesenterialschlitzes nur 10 Tage überlebten, zeigte sich eine abgeflachte Schleimhaut mit Schleimhautdefekten und dicken Fibrinbelägen. Die Muskulatur im Bereich der Stenose wies deutliche Atrophiezeichen in Form von relativer Zellkernvermehrung und entzündlicher Umgebungsreaktion auf. Sämtliche Anastomosen erschienen jedoch dicht und bis auf die beschriebenen Verhältnisse bei den Tieren 1 und 2 im Bereich der Mucosa reizlos, wenn auch die Schleimhaut geringfügig abgeflacht erschien.(Abb. 32)

Abbildung 25: Anastomose, 10 Tage post operationem (H.E. 101 X).





Abbildungen 26 u. 27: Anastomose, 20 Tage post operationem (H.E. bzw. VAN GIESON 101 X).



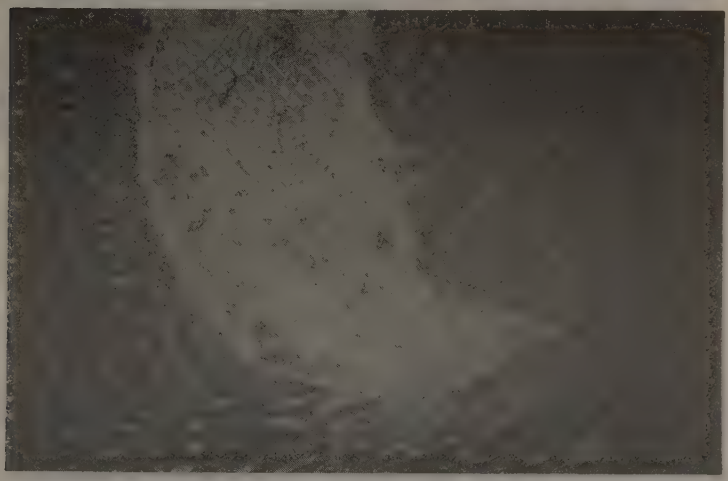


Abbildung 28: Anastomose, 10 Tage post operationem (H.E. 101 X)

Abbildung 29: Anastomose, 10 Tage post operationem mit Ileus durch zu engen Mesenterialschlitz. (H.E. 101 X)

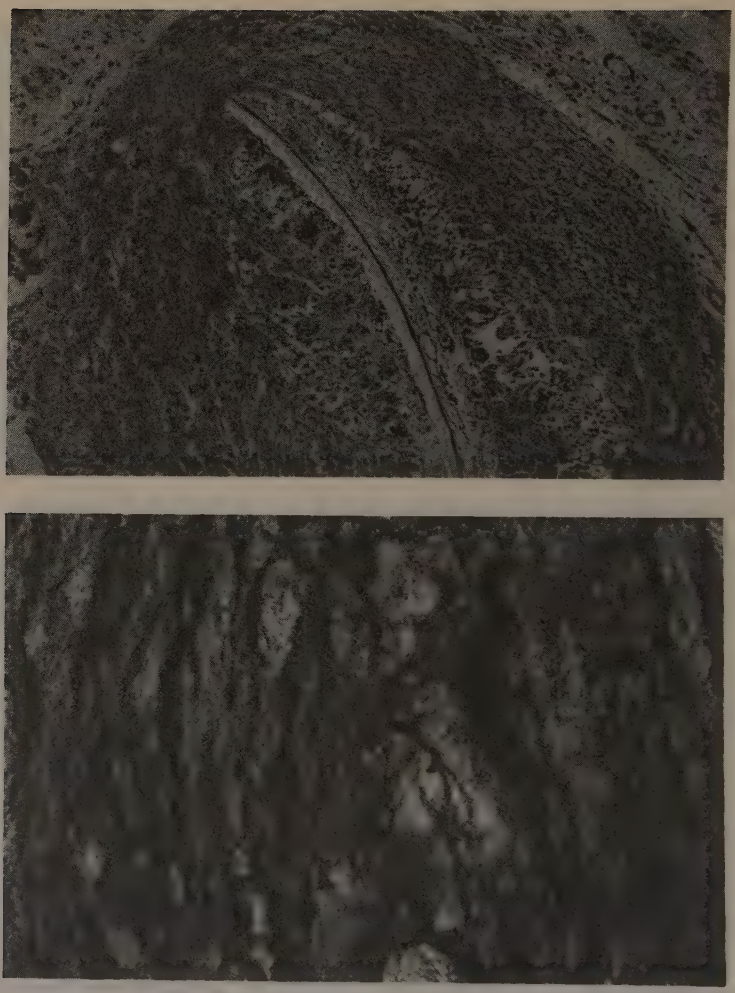


Abbildung 30: Fremdkörpergranulom im Bereich einer Anastomose, 20 Tage post operationem (H.E. 256 X)

Abbildung 31: Anastomose, 40 Tage post operationem (PALMGREEN 1600 X)

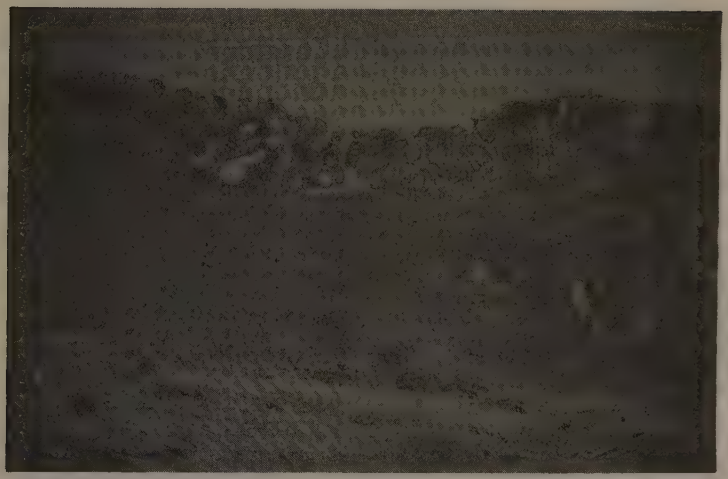


Abbildung 32: Anastomose, 40 Tage post operationem (H.E. 101 X)

Bei den längeren Überlebenszeiten fand sich im Anastomosenbereich ein immer zell- und gefässärmeres Bindegewebe in dem sich offensichtlich Schrumpfungserscheinungen bemerkbar machten, da die Bindegewebszone auf einen äusserst schmalen Bezirk beschränkt war. Im Stratum longitudinale der Tunica muscularis fand sich eine fast vollständige muskuläre Überbrückung des Defektes,

wobei die Faserrichtung nicht ganz exakt eingehalten wurde. Die Serosa zeigte eine gegenüber anderen Bereichen im Anastomosenbereich vermehrte Anwesenheit von Bindegewebsfasern und war geringfügig verdickt.(Abb. 26, 27)

Ganz vereinzelt waren in der Färbung nach PALMGREEN in Anastomosenrandbezirken im Bereich des Plexus myentericus geschlängelte Fasern nachweisbar, welche zunächst als Nerverfaseraussprossungen im Sinne einer Neuronbildung interpretiert wurden. Möglicherweise handelt es sich jedoch hierbei um nicht vollständig entfärbte Bindegewebsstrukturen, welche bei dieser Färbung zunächst mit angefärbt werden. (Abb. 31)

Glatte Muskulatur
- Neosphincter -

Zur histologischen Beurteilung lagen Präparate von insgesamt 52 Tieren vor, bei denen der "Neosphincter" durch Aufnähen eines von der Schleimhaut und weitgehend auch der Tunica submucosa befreiten seromuskulären Transplantats auf das intakte Darmrohr im Bereich des Colon descendens anusnahe. Diese Präparate lassen sich je nach erfolgter Vordehnung des Transplantats und der Überlebenszeit post transplantationem analog den Präparaten nach Transplantation von Skelettmuskulatur in folgende Gruppen einteilen:

Gruppe	Vordehnung	Überlebenszeit	Tier Nr.
		5 d	15,16,21
		10 d	11,12,13,70,71
		20 d	39,40,41,58,64,65
A	0 %	28 d	104
		40 d	27,28,29,53,60
		53 d	107
		60 d	54
		5 d	17,23,32
		10 d	1,2,3,4,51,52,72,73
B	100 %	20 d	42,43,44,55,66,67
		40 d	33,34,35,56,61,62,63
		60 d	57
C	120 %	33 d	103
		5 d	24,25,26
		10 d	14,22,31
D	150 %	33 d	102
		40 d	101
		160 d	59
E	200 %	11 d	106
		60 d	105

Tabelle 3 :Transplantation glatter Muskulatur.

Bei den seromuskulären Transplantaten war bereits nach 5 Tagen Überlebenszeit, betrachtet man zunächst die Präparate ohne Vordehnung des Transplantats (Gruppe A), eine fast vollständige Durchwanderung der Strukturen mit massenhaft Granulozyten und Makrophagen, wobei die ursprünglichen Muskelzellen kaum mehr erkennbar waren. Darüberhinaus fanden sich im Gewebe reichlich extravasal gelegene Ansammlungen von Erythrozyten. Bei stärkeren Vergrösserungen erkannte man bei den noch vorhandenen ursprünglichen Strukturen eine Auflösung der Muskelzellverbände und verdämmernde Muskelzellen. Diese waren umgeben von Makrophagen zur Abräumung der Zellreste.

Bei längeren Überlebenszeiten konnte keine Muskulatur oder Reste davon festgestellt werden. Hier war lockeres, zunächst noch relativ zellreiches Bindegewebe nachweisbar, wobei in den äussersten Randbezirken der Präparate zahlreiche Gefässanschnitte erkennbar waren, wie bei Gefässneusprossung. Die Kapillarsprossung nahm dabei offensichtlich ihren Ursprung von der Tunica serosa, die zunächst ödematös verdickt, später faserreich verbreitert war.

Bei den Überlebenszeiten von 5 Tagen zeigte der Plexus myentericus des Transplantats, an den Stellen, wo überhaupt noch solche Strukturen abgrenzbar waren, gegenüber den Nervengeflechten intakter Darmabschnitte eine deutliche Verarmung an Ganglienzellen, wohl durch Ganglienzelluntergang. Bei Überle-

benszeiten von 10 Tagen und länger waren keine Ganglienzellen in den Transplantaten mehr nachweisbar. Eine Aussprossung von Nervenfasern im Sinne einer Reinnervation des sich bindegewebig umwandelnden Transplantats fand sich bei sämtlichen untersuchten Präparaten nicht.

Die Schrumpfung des narbengewebig umgebauten Transplantats war offensichtlich bereits bei den nicht vorgedehnten seromuskulären Transplantaten ausgeprägt, da im Bereich der bindegewebigen Manschette eine Verschmälerung der Schleimhaut und eine geringfügige Verdickung der Submukosa mit Faservermehrung im Bereich des darunterliegenden Darmrohres erkennbar waren.

Abbildung 33: Neosphincter, 5 Tage post transplantationem und mit 0 % Vordehnung (H.E. 256 X)

Sphinctergebiet Muskulatur Darmlumen

Abbildung 34: Neosphincter, 5 Tage post transplantationem und bei 0 % Vordehnung (VAN GIESON 256 X)

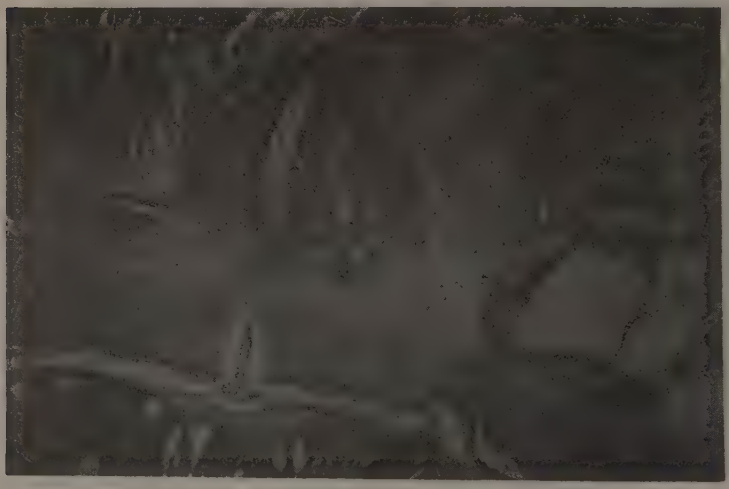
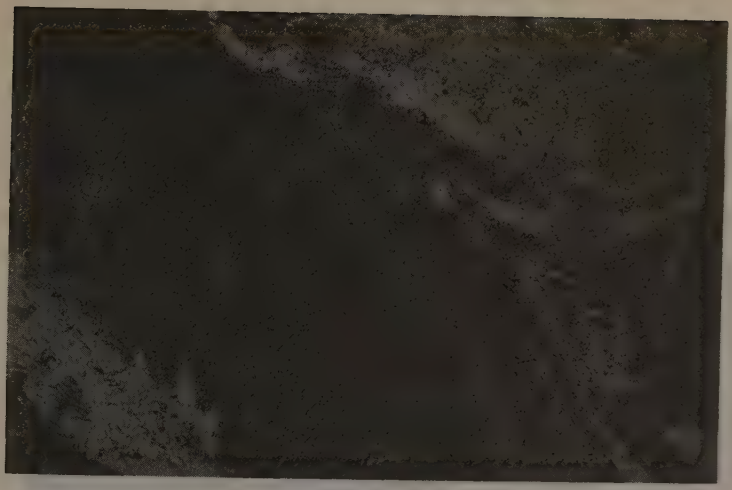
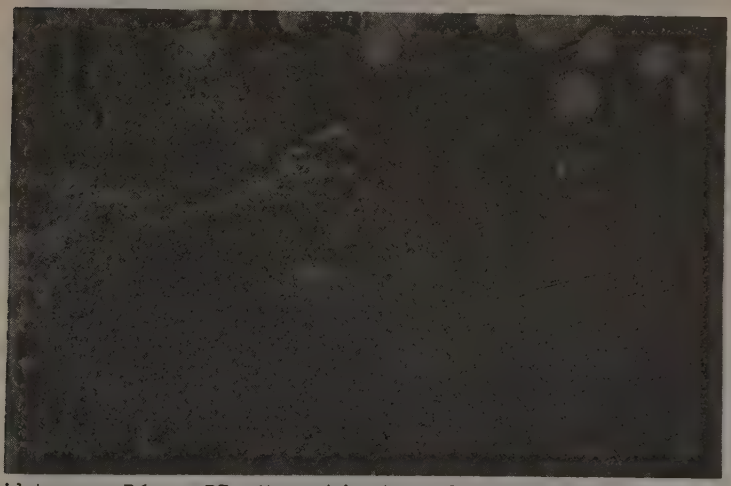
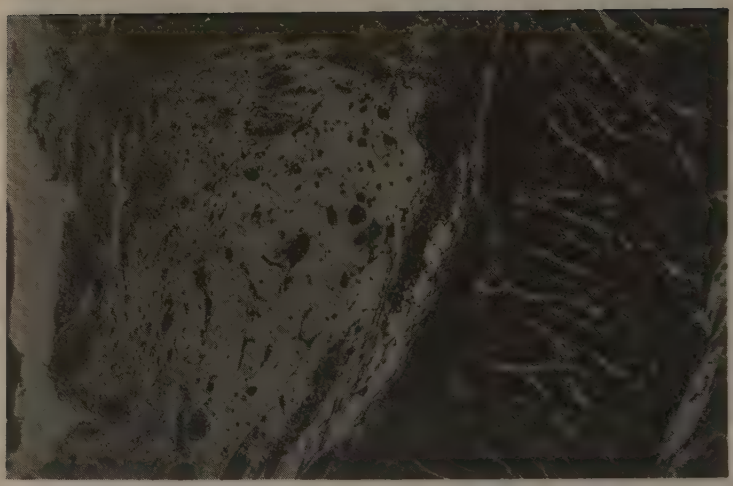


Abbildung 35: Neosphincter, 10 Tage post transplantationem und bei 0 % Vordehnung (H.E. 101 X)





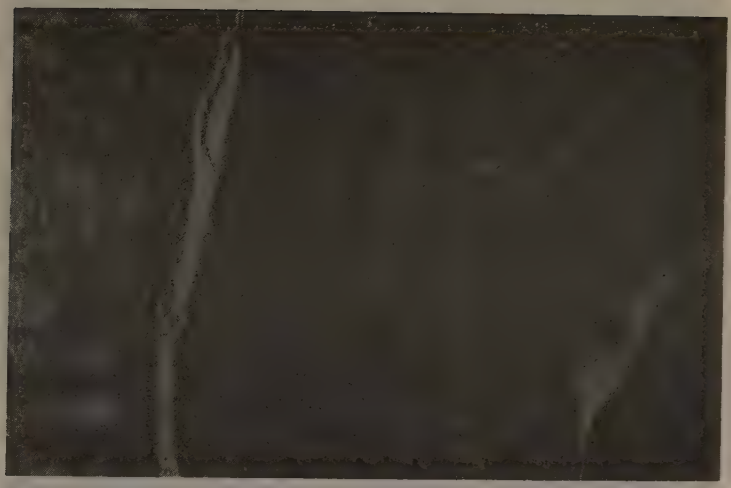
Abbildungen 36 u. 37: Neosphincter, 10 Tage post transplantationem und bei 0 % Vordehnung. (H.E. bzw. VAN GIESON 256 X)



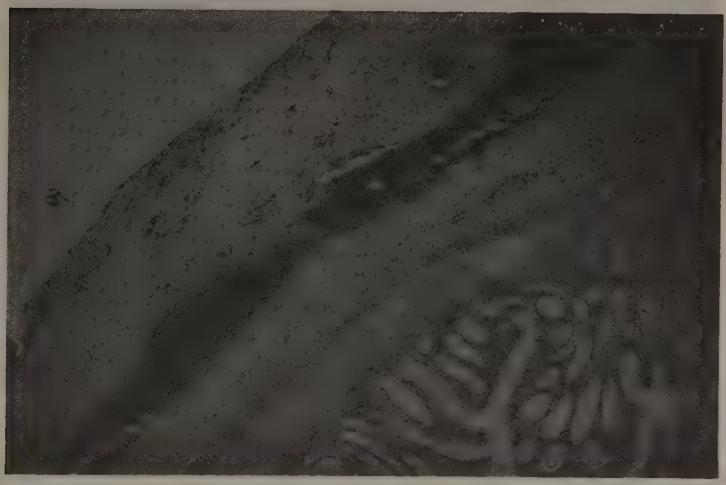
Sphinctergebiet Muskulatur Lumen

Abbildung 38: Neosphincter, 20 Tage post transplantationem und bei 0 % Vordehnung (GOLDNER 256 X).

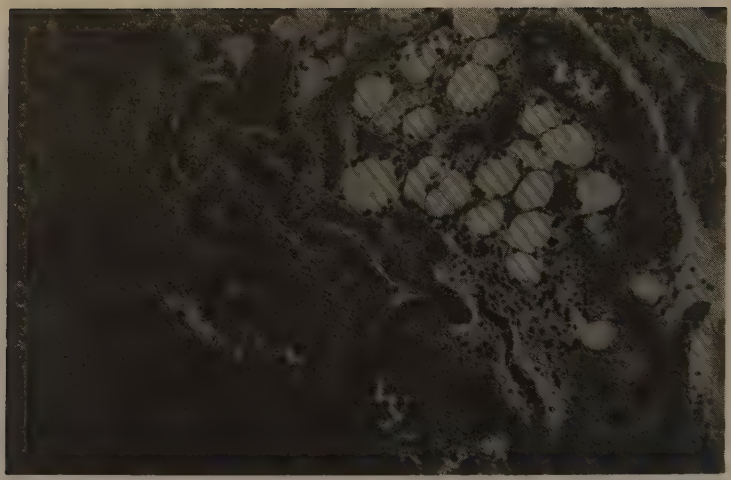
Bei Vordehnungen der Transplantate von 100 % (Gruppe B), insbesondere aber bei denen von 150 % (Gruppe D) und 200 % (Gruppe E) waren bereits bei Überlebenszeiten von 5 Tagen keine Ganglienzellen oder Reste der Muskulatur des Stratum longitudinale und circulare erkennbar. Die einzelnen Phasen der Umwandlung der Transplantate in Bindegewebe erfolgte ansonsten im Gegensatz zur quergestreiften Muskulatur im selben zeitlichen Ablauf, wie bei den nicht vorgedehnten Transplantaten.

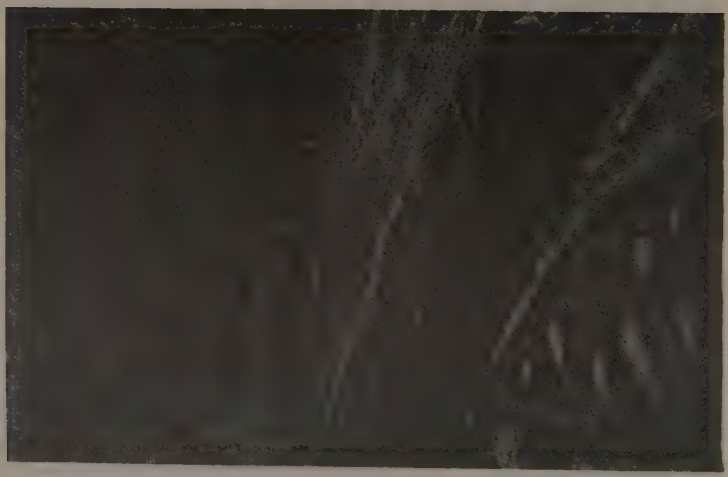


Darmlumen(Schleimhaut) Muskulatur Sphincter



Abbildungen 37 u. 38: Neosphincter 5 bzw. 10 Tage post transplantationem und bei 100 % Vergehnung (H.E. 101 X bzw 256 X).





Sphinctergebiet Muskulatur Lumen

Abbildungen 39 u. 40: Neosphincter 5 Tage post transplantationem und bei 150 % bzw. 200 % Vordehnung (H.E. 256 X bzw. 640 X)

Die bereits makroskopisch festgestellte Stenose bei den Tieren Nr. 14,22,31 fand sich sich histologisch auch bei den anderen Tieren mit mehr als 100 % Vordehnung. Bei diesen Präparaten fand sich eine stark ausgeprägte Schleimhautverschmälerung und Verdickung der Submukosa. Bei den stärkeren Vordehnungen vermeint man eine geringfügige Ganglienzellhypertrophie im Bereich des Plexus myentericus des intakten Darmrohres zu erkennen. Inwieweit dies möglicherweise durch einen Untergang anderer die Ganglienzellen umgebender Strukturen durch Druckatrophie zurückgeführt werden kann oder tatsächlich durch Hypertrophie der Ganglienzellen bedingt ist konnte nicht entschieden werden.

Auch bei den Transplantaten mit erfolgter Vordehnung fanden sich keine Aussprossungen von Neurofibrillen wie dies bei einer Reinnervation zu erwarten wäre. Allerdings kann festgestellt werden, dass die Ausbildung der bindegewebigen Narbe bei den glattmuskulären Transplantationen langsamer abgelaufen ist, als bei den Transplantaten quergestreifter Muskulatur und das gebildete Bindegewebe faserärmer und lockerer erschien.

VIII Diskussion der Ergebnisse

Bei der freien, autologen heterotopen Transplantation quergestreifter Skelettmuskulatur - hier Mus-

culus soleus von Ratten - fand sich im Gegensatz zu den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen keine signifikante und für eine postoperative Funktion relevante Regeneration oder gar ein Überleben von Muskelfasern. Trotz vorangegangener Denervierung und einer dann erfolgten Transplantation mit einer Latenzzeit von 14 Tagen, analog den Empfehlungen von STUDITSKI, BOSOVA, THOMPSON und CARLSON, zeigte sich, dass die im Zuge der voranschreitenden Revaskularisierung immer bessere Versorgung des Transplantats mit Sauerstoff und Nährstoffen offensichtlich im vorliegenden Experiment nicht ausreichte, um einen vollständigen Untergang der Muskulatur und einem vollständigen Ersatz dieser Strukturen durch ein zellarmes, faserreiches Bindegewebe zu verhindern. Inwieweit gegenüber nicht vorher denervierter Muskulatur ein verzögerter Ablauf aufgetreten ist, konnte anhand der vorliegenden Präparate nicht entschieden werden.

Die Rolle der Vordehnung des quergestreift muskulären Transplantats erschien nicht sehr ausgeprägt. Im vorliegenden Experiment war dies allerdings auch nicht anders zu erwarten, da die physiologischen Überlegungen, welche einer Vordehnung muskulärer Transplantate zugrundeliegen, nämlich die Ausbildung eines Tonus bei der quergestreiften Muskulatur und deren Erregungsphysiologie nicht anzuwenden sind. Im vorliegenden Experiment konnte somit lediglich eine gewisse Auswirkung auf die Ausrichtung der Kollagenfaserbündel und auf

die Geschwindigkeit, mit der sich die bindegewebige Narbe ausbildet, festgestellt werden.

Eine Reinnervation des Transplantats war nicht nachzuweisen, was nicht verwundert, da bei erfolgter Revaskularisierung keine zu innervierenden Strukturen mehr vorhanden waren und somit ein Innervationsdefizit als Motor für eine Reinnervation nicht vorhanden war. Eine Reinnervation des anfänglich mit denervierten Musculus flexor digitorum links konnte nicht nachgewiesen werden, fand allerdings sicherlich statt, da sowohl klinisch, wie auch histologisch die Anfangs beobachteten Denervierungsschäden nicht fortschritten.

Diese Ergebnisse eines nicht überlebenden freien Transplantats quergestreifter Muskulatur, trotz vorangegangener Denervierung, stehen völlig in Einklang mit den Ergebnissen von HOLLE und Mitarbeitern (1974) und sowie LAVINE und COCHRAN (1976), die ebenfalls eine zumindest in der ersten postoperativen Phase ablaufende Nekrose der Muskulatur mit Abräumungsvorgängen und eine vollständige Zerstörung der ursprünglichen Strukturen beschreiben. Während HOLLE und Mitarbeiter allerdings analog zu den Ergebnissen von THOMPSON und Mitarbeitern eine darauffolgende Regeneration der Muskulatur beschrieben, fanden LAVINE und COCHRAN, wie auch wir im vorliegenden Experiment, eine narbengewebige Umwandlung ohne muskuläre Regeneration. Die genannten Autoren erklären dies mit der Grösse der transplantierten Muskelstücke, was auch anhand der augenfälligen vaskulären

Versorgungsprobleme plausibel erscheint. Dies mag auch im vorliegenden Experiment ein Grund für die gefundenen Ergebnisse sein, da der gesamte Musculus soleus transplantiert wurde.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit könnte in dem Zeitintervall zwischen Denervierung und Transplantation liegen. CARLSON beschrieb bei Ratten eine so rasche Regeneration der Muskulatur mit Revaskularisierung, dass man dies auch bei der Reinnervation erwarten könnte. Setzt man eine so rasch einsetzende Reinnervation voraus, so kann man davon ausgehen, dass der transplantierte Muskel sich nicht mehr in dem von allen Autoren, welche sich mit der Transplantation quergestreifter Muskulatur befasst haben, für eine erfolgreiche Transplantation erforderlichen "formbaren Zustand" befand. Die in einzelnen Schnitten nachweisbaren Muskelfasern im Bereich der bindegewebigen Narbenzone lassen zumindest eine Regeneration nicht unmöglich erscheinen, geht man davon aus, dass es sich hierbei nicht um versprengte Muskelfasern des Transplantationsbettes, sondern um aus überlebenden Myonucei oder sog. Satellitenzellen neu gebildete Muskulatur handelt.

Betrachtet man die histologischen Ergebnisse nach der Transplantation glatter Darmmuskulatur, so kann festgestellt werden, dass sich die Ergebnisse von SCHMIDT und Mitarbeitern nicht bestätigen liessen.

Zunächst kann festgehalten werden, dass glattmuskuläre Transplantate sich im vorliegenden Experiment ganz analog wie die der quergestreiften Muskulatur verhielten. Auch bei diesen Transplantaten war eine vollkommene Umwandlung der transplantierten Muskulatur in ein lockeres Bindegewebe und in Fett nachzuweisen. Hierbei erfolgte diese Umwandlung geringfügig langsamer, als bei der Skelettmuskulatur und führte zu einem weniger kräftig ausgeprägten Bindegewebe. Ein Überleben der glattmuskulären Transplantate oder eine Regeneration glatter Muskulatur, wie dies von SCHMIDT und Mitarbeitern beschrieben wurde, fanden wir nicht. Die allerdings auch in unserem Experiment festgestellte Sphincterwirkung ist somit nach unseren Ergebnissen allein auf die unterschiedliche, bei stärkerer Vordehnung der Transplantate meist stark ausgeprägten Stenosierung durch Schrumpfung des gebildeten Bindegewebes zu erklären.

Eine Reinnervation der im vorliegenden Experiment bindegewebig umgewandelten Strukturen des seromuskulären Transplantats, wie dies von SCHMIDT postuliert wurde, konnte nicht nachgewiesen werden. Diese Tatsache erklärt sich jedoch, wie auch schon bei der Skelettmuskulatur mit dem fehlenden Reinnervationsreiz durch die untergehenden transplantierten Strukturen.

Bei den durchgeführten Anastomosen im Bereich des Colon ascendens konnte mit Ausnahme von zwei Tieren, bei denen ein zu enger Mesenterialschlitz angelegt worden

war, eine reizlose Abheilung der erfolgten Operation festgestellt werden. Auch hier bildete sich zunächst ein Granulationsgewebe, das sich im weiteren Verlauf zu einem sehr schmalen Narbenbezirk umwandelte. Diese Narbenzone wurde schliesslich von Schleimhaut überdeckt und auch bei der Tunica muscularis war bei längeren Überlebenszeiten kaum mehr eine Lücke feststellbar. Im Bereich der Anastomose fanden sich Hinweise für eine Nervenfaseraussprossung im Sinne einer Neuron-Bildung. Eine regelrechte Nervenfaseraussprossung zur Reinnervation von nicht innervierten Abschnitten war im vorliegenden Experiment auch nicht zu erwarten, da sowohl im proximalen wie auch im distal von der Anastomose gelegenen Darmabschnitt intakte Ganglienzellen in den beiden Plexus vorhanden waren und auch das Neurofilamentgeflecht nur im unmittelbaren Anastomosenbereich geschädigt war.

IX Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Präparate, welche durch autologe heterotope Transplantation glatter und quergestreifter Muskulatur und anschliessender Entnahme dieser Transplantate nach unterschiedlichen Zeitintervallen gewonnen wurden, histologisch untersucht. Hierbei sollten Erkenntnisse bezüglich einer in der Literatur beschriebenen Regeneration oder so-

gar einem Überleben der muskulären Transplantate gewonnen werden. Darüberhinaus sollte untersucht werden, inwieweit, falls überhaupt, eine Reinnervation und eine Revaskularisation der freien Transplantate erfolgt.

Es fand sich sowohl bei den glatt wie auch bei den quergestreift muskulären Transplantaten eine bereits nach wenigen Tagen einsetzende zelluläre Infiltration durch Granulozyten und Makrophagen, wodurch es zur Zerstörung und zum Abtransport der ursprünglichen Strukturen in den Transplantaten kam. Weiterhin fand sich eine rasch einsetzende Revaskularisierung, ausgehend von vorhandenen Gefässen der Umgebung, und das Auftreten von spindelzellkernigen Zellen (Fibroblasten). Im Verlaufe der weiteren postoperativen Phase konnte eine Umwandlung des zunächst gebildeten Granulationsgewebes in ein faserreiches, zellarmes Bindegewebe nachgewiesen werden. Lediglich bei der quergestreiften Muskulatur fanden sich Befunde, welche sich durch eine teilweise Regeneration von Muskulatur erklären liessen. Nach den histologisch gewonnenen Ergebnissen sind diese Regenerationen jedoch funktionell nicht wirksam.

Eine Reinnervation und damit eine Nervenfasersprossung in die Umgebung konnte weder bei den glatt noch bei den quergestreift muskulären Transplantaten festgestellt werden. Dieses Ergebnis steht im

Gegensatz zu einem Teil der Literatur, kann jedoch nur bei der Transplantation von Skelettmuskulatur durch einen möglicherweise nicht glücklich gewählten Zeitablauf des vorliegenden Experiments interpretiert werden. Im Übrigen erscheinen die hier gewonnenen Ergebnisse insbesondere bei der glatten Muskulatur mehr den tatsächlichen physiologischen Verhältnissen bei der Transplantation nicht gefässversorgter und nicht innervierter Muskulatur zu entsprechen.

X Literaturverzeichnis

BOSOVA N.N.: Free Autoplastic Transplantation of Whole Muscles. Byull. Exp. Biol. Med. 53(3), 88 (1962)

BRANDESKY G.: Kontinenzverbessernde Operationen im Kindesalter. Wiener Klin. Woch. 87(17), 541 (1975)

BRANDESKY G., HOLSCHNEIDER A.M.: Operations for the Improvement of Faecal Incontinence. Progr. Ped. Surg. 9, 105 (1076)

BÜNTE H.: Analkontinenz - chirurgishe Methoden der Wiederherstellung. Dtsch. Ärzteblatt 46, 2939 (1976)

CARLSON B.M.: Regeneration of the Rat Gastrocnemius Muscle from Sibling and Non-sibling Muscle Fragments. Am. J. Anat. 128, 21 (1970)

CARLSON B.M.: The Regeneration of Minced Muscles. S. Karger, Basel 1972

CARLSON B.M., GUTMANN E.: Development of Contractile Properties of Minced Muscle Regenerates in the Rat. Exp. Neurol. 36, 239 (1972)

CARLSON B.M., GUTMANN E.: Regeneration in Free Grafts of Normal and Denervated Muscles in the Rat: Morphology and Histochemistry. Anat. Rec. 183, 47 (1975)

CARLSON B.M.: A Review of Muscle Transplantation in Mammals. Phyliol.bohemoslov. 27, 387 (1978)

CHETWOOD C.H.: Plastic Operation for Restoration of the Sphincter Ani with Report of a Case. Med. Rec. 4, 529 (1902)

FREILINGER G., HOLLE J., MANOLI B.: Free Muscle Transplantation for Anal Sphincter Reconstruction in Pigs. Chir. plastica 3, 133 (1974)

HAKELIUS L., NYSTRÖM B.: Histochemical Studies of End-Plate Formation in Free Autologous Muscle Transplants in Cats. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 8 (1974)

HAKELIUS L., NYSTRÖM B.: Blood Vessels and Connective Tissue in Autotransplanted Free Muscle Grafts of the Cat. Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. 9, 87 (1975)

HAKELIUS L., GIERUP J., GROTTE G., JORULF H.: A New Treatment of Anal Incontinence in Children: Free Autogenous Muscle Transplantation. J. Ped. Surg. 13(1), 77 (1978)

HAKELIUS L.: Experimentelle und klinische Erfahrungen mit der freien Transplantation quergestreifter Muskulatur zur Behandlung der Analinkontinenz. Therapiewoche 31, 2316 (1981)

HARTL H.: Modifizierte Gracilisplastik. Pädiatr. u. Pädol. Suppl. 2, 99 (1972)

HOLLE J., FREILINGER G., GRUBER H., LISCHKA A., MAYR R.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur freien autologen Muskeltransplantation. Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. S.235 (1974)

HOLSCHNEIDER A.M., PÖSCHL U., KRAEFT H., HECKER W.Ch.: Pickrell´s Gracilis Muscle Transplantation and its Effect on Anorectal Continence. A Fife Year Prospective Study. Z. Kinderchir. 27(2), 135 (1979)

JENSON D.: The Physiology of Contractile Cells and Tissues in: The Principles of Physiology. Kap.4, 113 (1976)

LAVINE D.M., COCHRAN Th.A.: The Failure to Survive of Autogenous Free Grafts of Whole Gracilis Muscles in Dogs. Plast. and Reconstr. Surg. 58(2), 221 (1976)

LIGGINS D.F., FINSETH F.: Chir. Plast. 6, 175 (1982)

PEYRONNARD J.-M., CHARRON L.: Muscle Reorganization after Partial Denervation and Reinnervation. Muscle and Nerve p.509 (1980)

PICKRELL K., GEORIODES N., RICHARD E.F., MORRIS F.: Gracilis Muscle Transplantation for the Correction of Neurogenic Rectal Incontience.
Surg. clin. N. Amer. 39, 1402 (1959)

ROMEIS B.: Mikroskopische Technik. Oldenbourg Verlag 1968

SCHIAFFINO S., SJÖSTRÖM M., THORNELL L.E., NYSTRÖM B., HAKELIUS L.: The Process of Survival of Denervated and Freely Autotransplantated Skeletal Muscle.
Experimentia 31, 1328 (1975)

SCHMIDT E., PEIPER U.: Einfluss der Vordehnung auf die Dynamik der glatten Gefässmuskulatur.
Pflügers Arch. ges. Physiol. 333, 314 (1972)

SCHMIDT E., PEIPER U., LAVEN P., GRIEBEL L.: Length-Tension Relationships in Resting and Activated Vascular Smooth Muscle Fibers. Pflügers Arch.ges.Physiol. 340,113(1973)

SCHMIDT E., PEIPER U.: The Inportance of the Initial Stretch for the Activation of the Isolated Vascular Smooth Muscle. Pflügers Arch. Suppo. 332, 75 (1972)

SCHMIDT E.: Die chirurgische Behandlung der analen Inkontinenz mittels frei transplantierter autologer Darmmuskulatur. Chirurg 49(3), 320 (1978)

SCHMIDT E., ROMEN W., BRUCH H.-P., ROTHAMMER A.: Morphologische Befunde an freien autologen Darmmuskeltransplantaten. Chirurg 50, 379 (1979)

SCHMIDT E.: Autologe Darmmuskel-Transplantation. Langenbecks Arch. Chir. 352, 415 (1980)

SCHMIDT E., BRUCH H.-P.: Chirurgie inkontinenter Hohlorgane durch freie Transplantation glatter Muskulatur.
Zentralblatt f. Chirurgie 105, 1409 (1980)

SCHMIDT E., BRUCH H.-P.: Chirurgie inkontinenter Hohlorgane durch freie Transplantation glatter Muskulatur. Therapiewoche 31, 2326 (1981)

SHEPARD R.S.: Smooth Muscles in: Human Physiology Kap. 9, 148 (1971)

SHOEMAKER J.: Les nouveaux procédés opératoires pour la réconstruction du sphincter anal. Sém. Méd. (Paris) 29, 160 (1909)

SNOW M.H.: Myogenic Cell Formation in Regenerating Rat Skeletal Muscle Injured by Mincing I: A Fine Structural Study. Anat. Rec. 188, 181 (1977)

STONE H.B.: Plastic Operation to Restore Voluntary Anal Control. J. Am. Med. Ass. 97, 1205 (1931)

STUDITSKY A.N., BOSOVA N.N.: Development of Atrophic Muscular Tissue in Conditions of Transplantation in Place of Mechanically Damaged Muscles. Arch. Anat. Gist. Embriol. 39(12), 18 (1960)

THOMPSON N.: Investigation of Autogenous Skeletal Muscle Free Grafts in the Dog. Transplant. 12, 353 (1971)

THOMPSON N.: Autogenoue Free Grafts of Skeletal Muscle. Plastic Reconst. Surg. 48, 11 (1971)

WREDEN R.R.: A Method of Reconstructing a Voluntary Sphincter Ani. Arch. Surg. 18, 841 (1929)

Herrn Prof. Dr. med. A.M. Holschneider möchte ich an dieser Stelle danken für die Überlassung des Themas und die Durchführung der Vorarbeiten.
Besonders herzlich danke ich Herrn Prof. Dr. O. Stochdorph für seine Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Lebenslauf:

Am 28. Februar 1949 geboren in Markt Indersdorf
Vater: Kornelius Urban (verstorben 1973)
Mutter: Ernestine Urban geb. Blohs

Volksschule an der Gabelsbergerstrasse
in München.....1955-1959

Wittelsbacher Gymnasium München.....ab 1959
Abitur.....23.7.1968

Studium der Chemie an der
Technischen Universität München.....ab 1968
Diplomhauptprüfung.....29.10.1973
Promotion.....11.12.1975

Studium der Medizin an der
Ludwig Maximilian Universität München.....ab 1975
Ärztliche Vorprüfung.....15.4.1977
Staatsexamen,Approbation..22.5.1981